

[13] 王月红, 王 磊, 张洪兵, 等. 基于 HPLC-Q/TOF-MS 的六经头痛片血中移行成分研究[J]. 中草药, 2017, 48(20): 4151-4156.

[14] 张 婷, 牛 阳, 黄楷迪, 等. 扎里奴思方水提液在大鼠血浆、胆汁、尿液和粪便中代谢产物鉴定[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(21): 5280-5288.

[15] 程宇欣, 陈两绵, 王智民, 等. UHPLC-QTOF-MS 法分析鉴定吴茱萸水提物在大鼠血浆、尿液和粪便中的原形成分及其代谢产物[J]. 药学学报, 2017, 52(7): 1157-1164.

[16] Chen H G, Zhou X, Zhao Y, *et al.* HPLC-DAD-ELSD combined pharmacodynamics and serum medicinal chemistry for quality assessment of Huangqi Granule[J]. *PLoS One*, 2017, 10(4): e0123176.

[17] He J L, Zhao J W, Ma Z C, *et al.* Serum pharmacochemistry analysis using UPLC-Q-TOF/MS after oral administration to rats of Shenfu Decoction[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015, 2015(2): 973930.

[18] Wang X Y, Li S J, Wang Y Q, *et al.* HPLC-DAD-Q-TOF/MS-based screening and analysis of the multiple absorbed bioactive components in rat serum after oral administration of Xiexin Tang[J]. *Curr Pharm Anal*, 2020, 16(6): 712-723.

炙甘草干预脾虚大鼠的血清代谢组学研究

化 敏¹, 耿 雪^{2,3}, 刘月程¹, 孙 娜², 戴衍朋^{1*}, 周 倩^{1*}
(1. 山东省中医药研究院, 山东 济南 250014; 2. 山东中医药大学药学院, 山东 济南 250355; 3. 山东省食品药品检验研究院, 山东 济南 250101)

摘要: **目的** 基于 UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS 法探讨炙甘草对脾虚大鼠血清内源性标志物的影响, 寻找给药后差异性潜在生物标志物群。**方法** 将雄性 SD 大鼠随机分为空白组、模型组、炙甘草组 (6.25 g/kg)。通过复合因素建立脾虚大鼠模型, 连续 20 d。第 21 天起, 空白组和模型组大鼠灌胃给予生理盐水, 炙甘草组大鼠灌胃给予炙甘草水提液, 剂量 10 mL/kg, 每天 1 次, 连续 10 d, 观察行为学及病理形态学变化。于末次给药 30 min 后采集大鼠血液样本进行代谢组学分析, 结合多元统计分析寻找潜在生物标志物, 分析相关代谢通路。**结果** 模型组与空白组之间共鉴别出 16 种与脾虚相关的差异代谢物。与空白组比较, 模型组大鼠甘油磷酸胆碱、三氯乙醇葡萄糖苷酸、油酸等 12 种代谢物水平升高 ($P<0.05$), 棕榈酰肉碱、7 α -羟基胆甾烯-3-酮、磷酸胆碱等 4 种代谢物水平降低 ($P<0.05$); 与模型组比较, 炙甘草组大鼠代谢紊乱得到改善, 对筛选出与脾虚相关的代谢产物水平有所回调, 代谢途径主要涉及醚脂代谢、甘油磷脂代谢、嘌呤代谢等。**结论** 炙甘草可能通过调节醚脂代谢等发挥补益作用。

关键词: 炙甘草; 代谢组学; 脾虚证; UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2023)05-1710-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.05.058

历代医家认为脾虚证是指脾气不足, 失其健运所表现的证候, 多因饮食不节, 劳累过度, 久病耗伤脾气所致^[1-3]。现代研究表明, 脾脏与机体免疫功能、生理病理状况等方面密切相关^[4-5], 脾虚容易引起消化不良、冠心病等疾病^[6-8], 所以历代医家多从补脾的角度治疗各类疾病。

炙甘草是豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.、胀果甘草 *Glycyrrhiza inflata* Bat. 或光果甘草 *Glycyrrhiza glabra*

L. 的干燥根及根茎的蜜炙加工品, 具有补脾和胃、益气复脉的功效。《脾胃论》中记载“炙甘草甘温补脾养胃为臣”, 用于脾胃虚弱而导致的肠鸣泄泻、脏器下垂等疾病的治疗。课题组前期对生、炙甘草的药理活性及免疫等方面进行研究, 证实炙甘草在提高机体免疫力和保护胃肠道方面表现出良好的预防和治疗效果^[9-10]。但目前开展的炙甘草相关研究多集中在心血管疾病方面^[11-12], 炙甘草补益

收稿日期: 2022-09-29
基金项目: 国家自然科学基金项目 (81603299); 山东省自然基金重点项目 (ZR2020KH021)
作者简介: 化 敏 (1997—), 女, 硕士, 研究实习员, 从事中药饮片质量评价及炮制规范化研究。Tel: (0531) 82950986, E-mail: huamlkh@163.com
*** 通信作者:** 戴衍朋 (1981—), 男, 硕士, 副研究员, 从事中药饮片质量评价及炮制规范化研究。Tel: (0531) 82950718, Email: daiyanpeng1027@163.com
周 倩 (1982—), 女, 博士, 研究员, 从事中药饮片质量评价及炮制规范化研究。Tel: (0531) 82950986, Email: zhouqian0126@126.com

作用机制尚不明确。因此本研究通过复合因素方法建立大鼠脾虚模型，采用代谢组学方法结合多元统计分析，确定炙甘草干预脾虚的潜在生物标志物及相关代谢通路，综合解析炙甘草补益的作用机制，以期为其在临床上脾虚证的干预治疗提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器 Allegra X-5 台式冷冻离心机（美国贝克曼库尔特公司）；酶标仪（南京德铁实验设备有限公司）；电子天平（十万分之一，瑞士 Mettler-Toledo 公司）；四级杆-静电场轨道阱高分辨质谱仪-液相色谱质谱联用仪（美国赛默飞世尔公司）。

1.2 试剂与药物 炙甘草，批号 201201，购自山东百味堂中药饮片有限公司，经山东省中医药研究院孙立立研究员鉴定为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根及根茎的蜜炙品。乙腈（批号 207866）、甲醇（批号 200169）均为色谱纯，购自美国赛默飞世尔公司。

1.3 动物 健康雄性 SPF 级 SD 大鼠，体质量（200±20）g，购自济南朋悦实验动物繁育有限公司，实验动物生产许可证号 SCXK（鲁）2019-0003，饲养于山东省食品药品检验研究院，实验动物使用许可证号 SYXK（鲁）2018-0013。将大鼠置于实验室控制的条件下，温度（25±1）℃，相对湿度（50±20）%，自然昼夜节律光照，适应性饲养 7 d，保持正常饮水和进食。本研究所涉及的动物实验经山东省中医药研究院伦理委员会批准（编号 SDZY202101001）。

2 方法

2.1 炙甘草水煎液和大黄水提物制备 取大黄、炙甘草适量，分别加入 10 倍量水浸泡 0.5 h，煎煮 2 次，每次 1 h，合并滤液，浓缩至生药量 1.0 g/mL（大黄）、0.625 g/mL（甘草），4℃保存。

2.2 动物分组、造模、给药及取材 将大鼠随机分为空白组、模型组、炙甘草组，每组 6 只。模型组与炙甘草组大鼠采用饮食不节（一日给足食量，一日禁食）、过度劳倦（每天游泳至力竭）及灌胃给予大黄 10 mL/kg，连续 20 d，构建脾虚模型。自第 21 天起，空白组与模型组大鼠每天灌胃给予等体积生理盐水。炙甘草组大鼠每天灌胃给予炙甘草水煎液 6.25 g/kg，连续 10 d。末次给药后，各组大鼠腹主动脉取血，常温下静置 40 min，在 4℃下 3 000 r/min 离心 10 min，取上清液置于-80℃冰箱中保存。同时取肝、脾、胃、小肠、结肠组织，采用 4%多聚甲醛固定。

2.3 行为学观察 观察大鼠的毛色、粪便情况、活动情况及体质量变化。每天早晨记录体质量及粪便变化情况。

2.4 病理形态学观察 取各组大鼠肝脏、脾脏、胃、小肠、结肠组织，纵断面取材，进行石蜡包埋，制作切片，HE 染色，光学显微镜下观察组织形态结构。

2.5 血清样品前处理 将各组大鼠血清样品置于 4℃冰箱解冻，取 150 μL 血清加入 600 μL 预冷甲醇，涡旋混匀 2 min，在 4℃下 12 000 r/min 离心 15 min，取上清液 600 μL，氮气 40℃下吹干，残渣加入 120 μL 甲醇复溶，涡旋

混匀 2 min，在 4℃下 12 000 r/min 离心 15 min，取上清液置于进样瓶中备用。

2.6 UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS 条件

2.6.1 色谱 Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱（2.1 mm×100 mm，1.7 μm）；流动相 0.05% 甲酸（A）-乙腈（B），梯度洗脱（0~5 min，5%~10% B；5~6 min，10%~30% B；6~9 min，30%~50% B；9~15 min，50%~70% B；15~19 min，70%~75% B；19~25 min，75%~90% B；25~26.5 min，90%~100% B；26.5~28 min，100% B；28~30 min，100%~5% B）；体积流量 0.3 mL/min；柱温 40℃；进样量 2 μL。

2.6.2 质谱 电喷雾离子源，正、负离子模式检测；雾化气高纯度 N₂；碰撞气高纯度 He。一级全扫描-数据依赖性二级质谱扫描模式，扫描范围 *m/z* 80~1 200；鞘气压 40 psi（1 psi=6.895 kPa）；辅助气压 5 psi；喷雾电压 3.0 kV；离子传输管温度 300℃；辅助气加热温度 320℃；透镜电压 50 V；分辨率 70 000（一级质谱）、17 500（二级质谱），高能量碰撞解离。

2.7 数据处理 采用 ProteoWizard 软件将原始文件格式转换为“.mzXML”，通过 R 语言进行峰识别、对齐、校正，保留时间校正及峰筛选（校正参数设置为 ppm=10，snthresh=20，bw=20），完成数据预处理。

预处理后的数据导入 SIMCA 14.1 软件，进行主成分分析（PCA）和正交偏最小二乘法判别分析（OPLS-DA），采用 OPLS-DA 分析对血清数据进行有监督的模式识别，以寻找不同组间的差异。对数据进行 200 次随机排列实验，根据 *R*² 和 *Q*² 检验数学模型建立的准确性。根据 PLS-DA 投影变量重要性（VIP）结合单因素方差分析，筛选出 VIP>1 的变量。

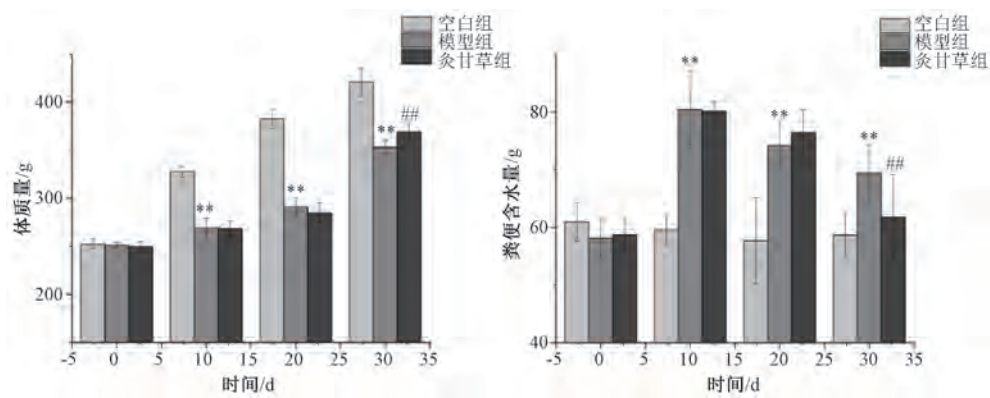
通过 Mass Profiler Professional 软件进行处理，组间比较采用 Student-*t* 检验。*P*<0.05、倍数变化大于 2 表示差异具有统计学意义。

2.8 代谢物鉴定 获得的变量 *m/z* 值导入通过 HMDB（<http://www.Hmdb.ca>）、MassBank（<http://massbank.eu/MassBank/>）、KEGG（<http://www.ge-nome.jp/kegg/>）数据库进行检索，设定误差≤30，结合二级质谱碎裂片段信息以及文献对潜在生物标志物进行鉴定。

2.9 代谢通路和代谢网络分析 将已鉴定的生物标志物导入 MetaboAnalyst 5.0 数据库进行通路分析，选择临界值>0.01 的代谢通路作为关键潜在代谢通路。整合代谢通路进行网络分析，寻找炙甘草干预脾虚的核心靶点。

3 结果

3.1 炙甘草对脾虚证大鼠一般状态的影响 与空白组比较，模型组大鼠体质量减少（*P*<0.01），粪便含水量升高（*P*<0.01），存在泄泻、粪便无形稀溏、食少纳呆、体态消瘦、体质量减少、神态萎靡、毛色枯槁、蜷缩聚堆，易疲劳的现象；与模型组比较，炙甘草组大鼠粪便异味减少、粪便成形及稀溏程度改善，精神状况好转，见图 1。



注：与空白组比较，***P*<0.01；与模型组比较，##*P*<0.01。

图 1 各组大鼠体质量及粪便含水量

3.2 炙甘草对脾虚证大鼠各脏器形态的影响 与空白组比较，模型组大鼠结肠上皮细胞和绒毛数量减少，腺体扁平、扭曲、排列不规整，吸收细胞轻度减少，腺体间质淋巴细胞浸润，肝脏组织轻度萎缩，肝血窦轻度扩张，其内可见内皮细胞及少量巨噬细胞，均可见少量小灶性坏死灶，胃黏膜有轻微炎性病变，小肠及脾脏组织未见明显异常；与模型组比较，炙甘草组大鼠绒毛结构得到恢复，肠黏膜腺体数目正常，腺腔规则，浸润炎症细胞数量减少，肝脏组织萎缩减少，胃黏膜与小肠及脾脏组织未见明显异常。见图 2。

3.3 代谢组学定性分析 总离子流图见图 3。由此可知，各组血清样品代谢物含量存在一定差异。

3.4 数据处理分析

3.4.1 主成分分析 (PCA) 由图 4 可知，建立的方法重复性、稳定性良好。各组大鼠代谢轮廓分离明显，表明代谢存在差异。

3.4.2 正交偏最小二乘法判别分析 (OPLS-DA) 由图 5 此可知，在正负离子模式下，空白组与模型组、模型组与炙甘草组均分离，表明经造模给药后大鼠血清发生变化，炙甘草能够改善脾虚大鼠的血清代谢异常。对空白组与模型组 ($R^2 = 0.856$ 、 $Q^2 = -0.298$)、模型组与炙甘草组 ($R^2 = 0.856$ 、 $Q^2 = -0.340$) 进行模型验证发现，模型拟合性好、具有可靠性，可用于炙甘草干预脾虚代谢物的筛选。

3.4.3 生物潜在标志物的鉴定 通过对大鼠血清代谢产物变化的预测，寻找 VIP>1、倍数变化≥2 及 $P<0.05$ 的代谢产物，依据潜在的生物标志物精确分子量，通过 HMDB、KEGG、METLIN 数据库，结合化合物相关质谱信息进行化合物结构推测。共鉴定出潜在生物标志物 16 种，见表 1。与空白组比较，模型组有 4 种生物标志物水平降低 ($P<0.05$ ， $P<0.01$)，12 种生物标志物水平升高 ($P<0.05$ ， $P<0.01$)，给予炙甘草水提物进行干预后，16 种指标全部发生回调，与模型组比较，炙甘草组的 4 种生物标志物水平升高 ($P<0.05$ ， $P<0.01$)，12 种生物标志物水平降低 ($P<0.05$ ， $P<0.01$)，见图 6。

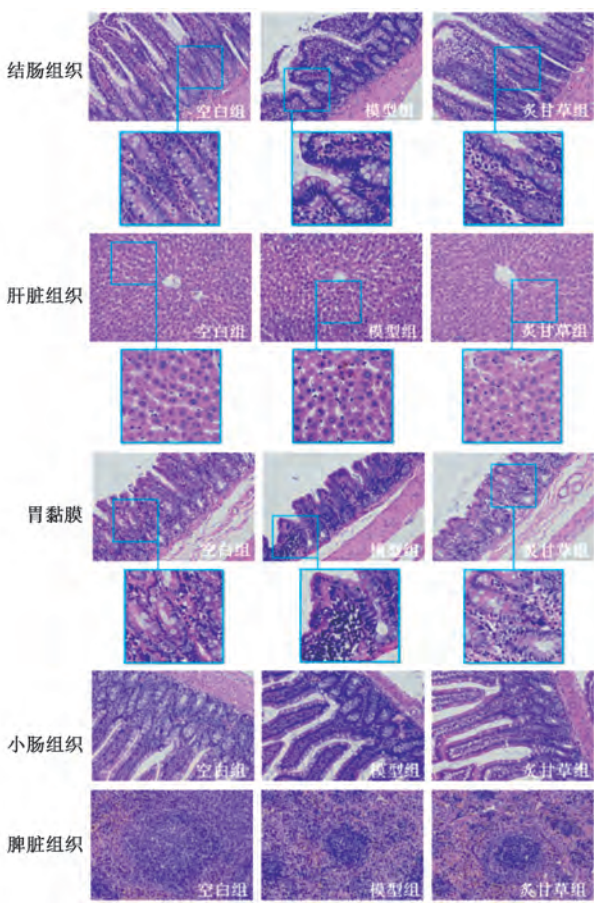


图 2 各组大鼠各脏器组织病理 HE 染色

3.5 内源性差异化合物的代谢通路分析 16 种生物标志物共同作用于 7 条代谢通路，炙甘草干预脾虚证大鼠代谢紊乱主要涉及醚脂代谢、视黄醇代谢、甘油磷脂代谢、嘌呤代谢、类固醇生物合成、初级胆汁酸生物合成和类固醇激素生物合成通路，见表 2、图 7~8。

与空白组比较，模型组 5-氨基咪唑核糖核苷酸、甘油磷酸胆碱、三氯乙醇葡萄糖苷酸、角鲨烯二磷酸、牛磺胆酸、9, 10-环氧十八烯酸、lysoPC ($O-18:0/0:0$)、孕烯醇酮、油酸、11-顺式视黄醇、5 α -孕聚糖-20 α -醇-3-酮、反式-13,

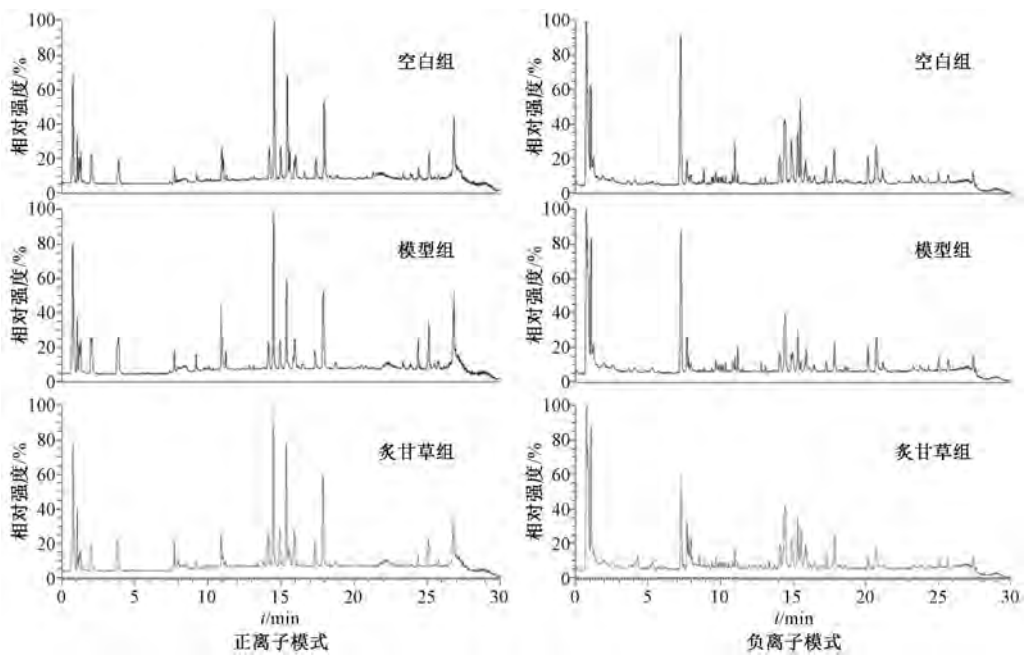


图 3 各组血清样品总离子流图

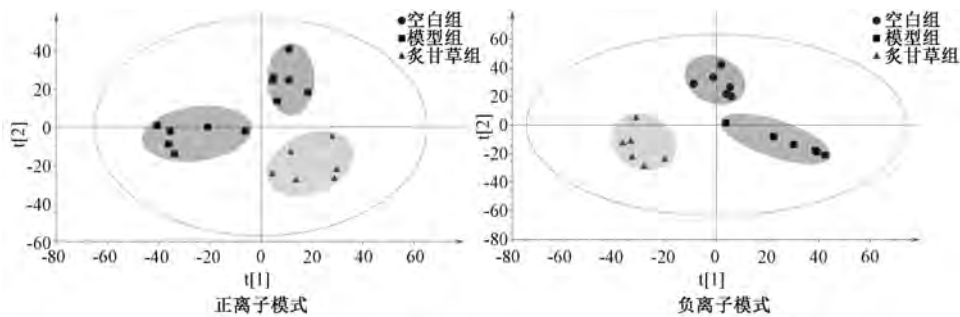
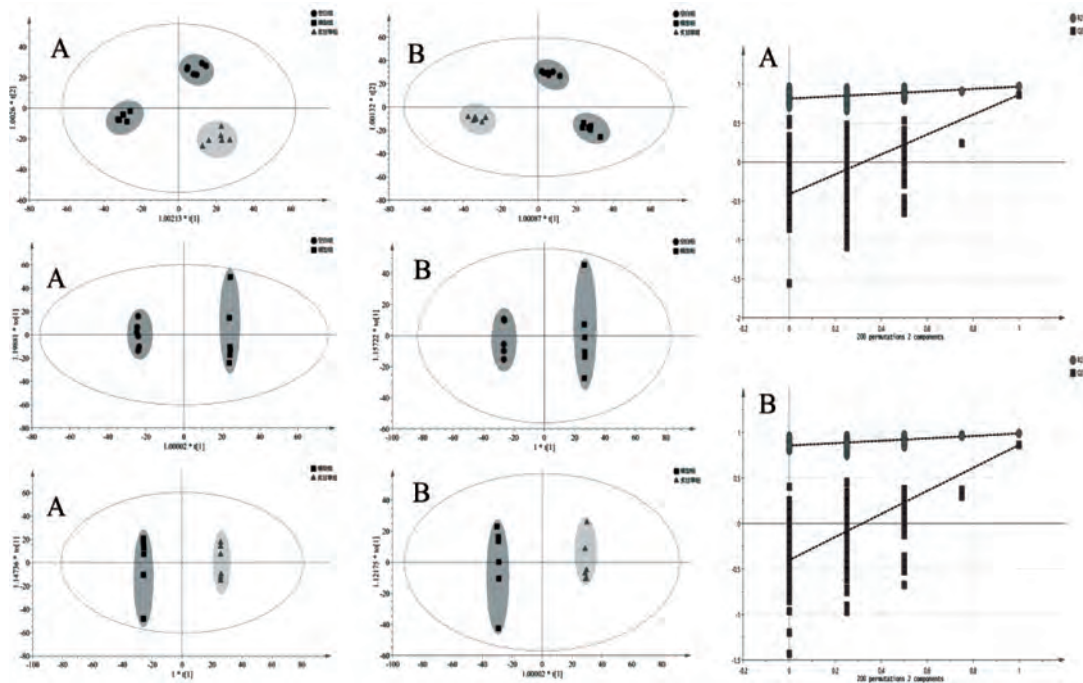


图 4 各组大鼠血清 PCA 得分图

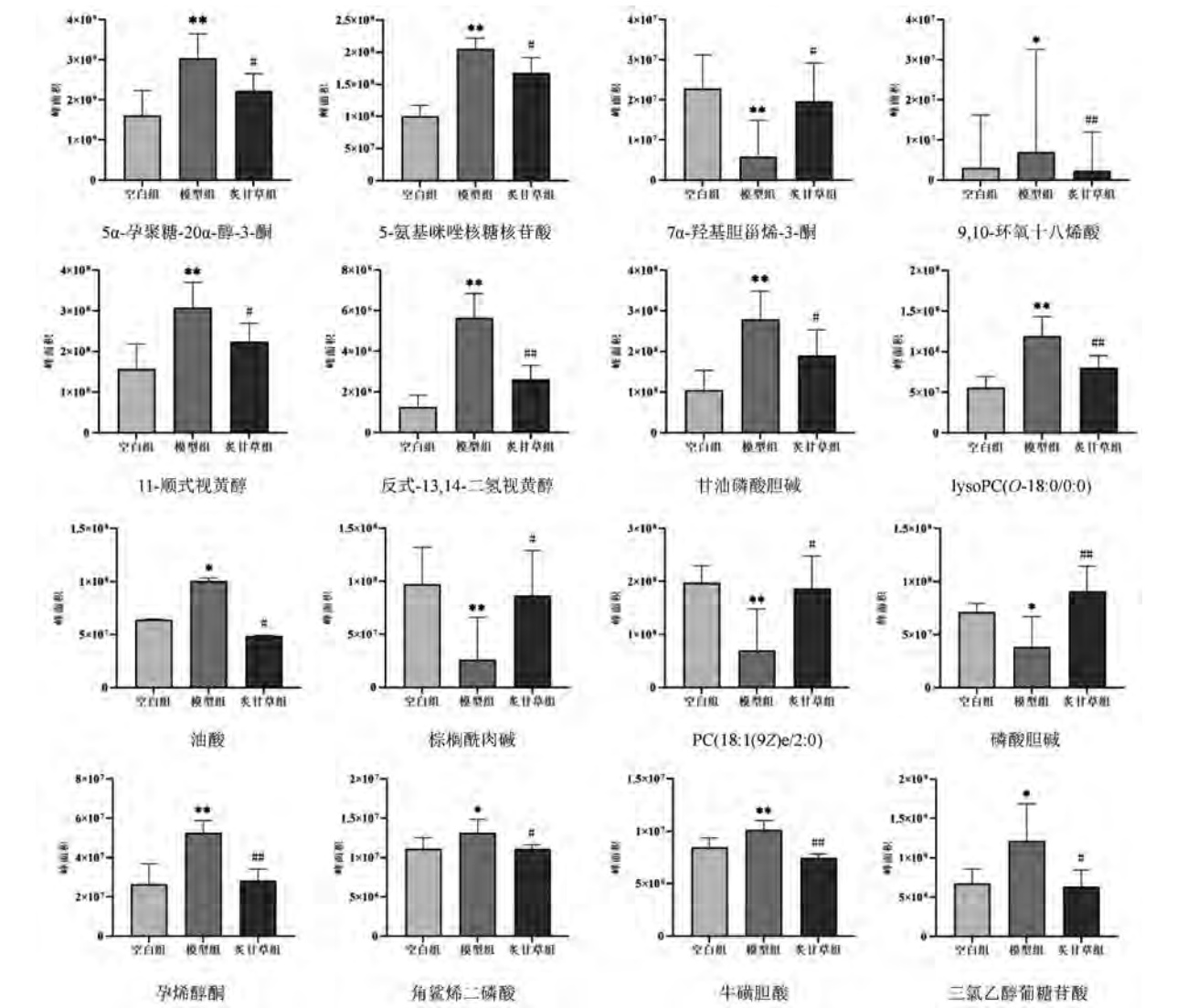


注：A 为正离子模式，B 为负离子模式。

图 5 大鼠血清代谢组学 OPLS-DA 得分及验证

表 1 正、负离子模式下血清中炙甘草干预脾虚证的相关代谢产物

代谢产物	保留时间/min	KEGG 编号	分子式	m/z	检测模式	变化趋势	
						模型组 vs.空白组	炙甘草组 vs.模型组
5-氨基咪唑核苷糖核苷酸	0.761	C03372	C ₈ H ₁₄ N ₃ O ₇ P	295.056 9	[M+H] ⁺	升高	降低
甘油磷酸胆碱	0.856	C00671	C ₈ H ₂₀ NO ₆ P	257.102 8	[M+H] ⁺	升高	降低
三氯乙醇葡萄糖苷酸	7.281	C14868	C ₈ H ₁₁ Cl ₃ O ₇	323.957 0	[M-H] ⁻	升高	降低
角鲨烯二磷酸	7.932	C03427	C ₃₀ H ₅₂ O ₇ P ₂	586.318 8	[M+H] ⁺	升高	降低
牛磺胆酸	8.481	C05122	C ₂₆ H ₄₅ NO ₇ S	515.291 7	[M+H] ⁺	升高	降低
棕榈酰肉碱	15.083	C02991	C ₂₃ H ₄₅ NO ₄	399.334 9	[M+H] ⁺	降低	升高
7α-羟基胆甾烯-3-酮	15.085	C05454	C ₂₇ H ₄₄ O ₂	400.334 1	[M+H] ⁺	降低	升高
9,10-环氧十八烯酸	16.064	C14824	C ₁₈ H ₃₂ O ₃	296.235 1	[M-H] ⁻	升高	降低
磷酸胆碱	17.939	C00587	C ₅ H ₁₅ NO ₄ P	184.073 9	[M+H] ⁺	降低	升高
PC(18:1(9Z)e/2:0)	18.342	C04597	C ₂₈ H ₅₆ NO ₇ P	549.379 4	[M+H] ⁺	降低	升高
lysoPC(O-18:0/0:0)	18.678	C04316	C ₂₆ H ₅₆ NO ₆ P	509.384 5	[M+H] ⁺	升高	降低
孕烯醇酮	23.216	C01952	C ₂₁ H ₃₂ O ₂	316.240 2	[M+H] ⁺	升高	降低
油酸	23.816	C00712	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282.255 9	[M-H] ⁻	升高	降低
11-顺式视黄醇	25.104	C00898	C ₂₀ H ₃₀ O	286.229 7	[M+H] ⁺	升高	降低
5α-孕聚糖-20α-醇-3-酮	25.105	C18042	C ₂₁ H ₃₄ O ₂	318.255 9	[M+H] ⁺	升高	降低
反式-13,14-二氢视黄醇	26.587	C15491	C ₂₀ H ₃₂ O	288.245 3	[M+H] ⁺	升高	降低



注：与空白组比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。

图 6 正、负离子模式下血清中各生物标志物的变化趋势

表 2 炙甘草干预脾虚证大鼠血清中潜在生物标志物的主要代谢通路 (影响值>0.01)

通路	总数	期望值	精确匹配种数	原始 P 值	-lg(P)	校正 P 值	影响值
醚脂代谢	20	0.212	3	0.001	3.000	0.084	0.229
视黄醇代谢	16	0.170	2	0.012	1.935	0.963	0.126
甘油磷脂代谢	36	0.382	2	0.054	1.269	1.000	0.058
嘌呤代谢	66	0.700	1	0.513	0.290	1.000	0.052
初级胆汁酸生物合成	46	0.488	2	0.083	1.080	1.000	0.039
类固醇激素生物合成	77	0.816	2	0.195	0.710	1.000	0.038
类固醇生物合成	42	0.445	1	0.365	0.438	1.000	0.014

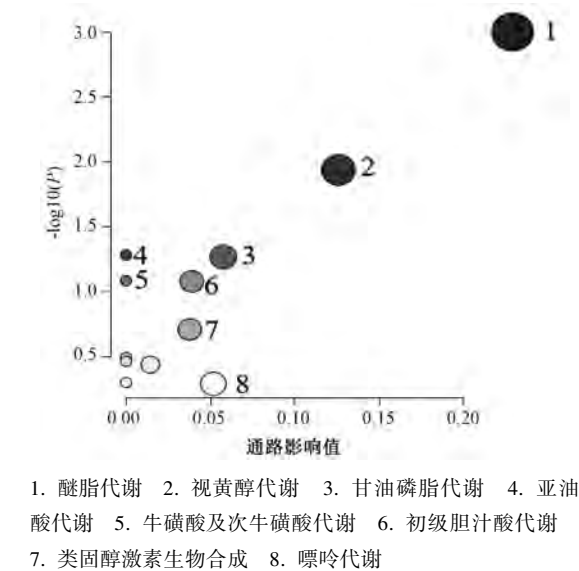


图 7 炙甘草干预脾虚的代谢通路影响图

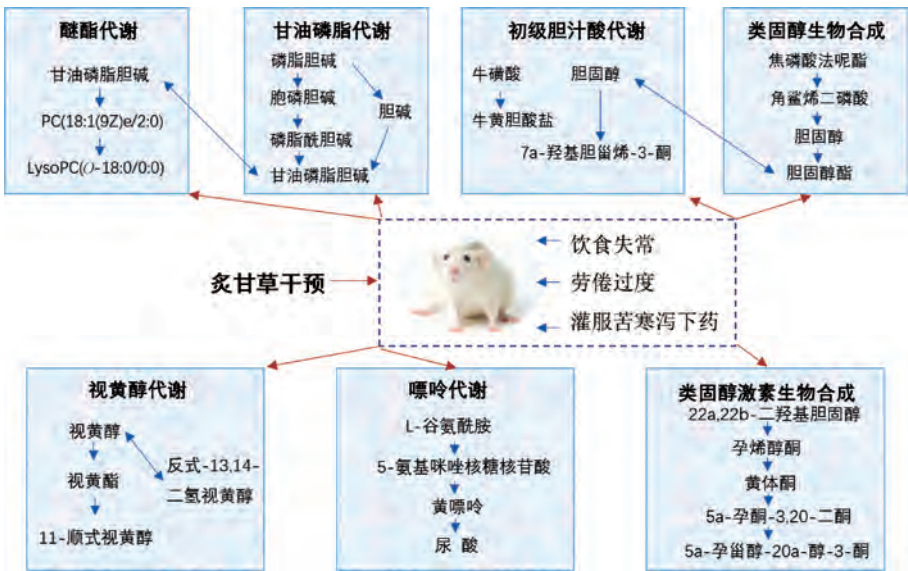


图 8 炙甘草干预后差异生物标志物代谢通路图

醚脂和甘油磷脂代谢均属脂质代谢。甘油磷脂代谢通过磷脂酶的水解联络体液代谢的相关信号通路，促进物质与能量代谢的正常运行，维持代谢平衡与稳态^[13]。磷脂酶的合成是影响甘油磷脂代谢产物的重要环节^[14]。本研究显示，与空白组比较，模型组 lysoPC (O-18:0/0:0)、甘油磷脂酰胆碱水平升高，磷酸胆碱、PC (18:1 (9Z) e/2:0)

14-二氢视黄醇 12 种代谢物水平升高，棕榈酰肉碱、7α-羟基胆甾烯-3-酮、磷酸胆碱、PC (18:1 (9Z) e/2:0) 4 种代谢物水平降低，提示脾虚证大鼠体内存在脂类、氨基酸等代谢紊乱。经炙甘草干预后，其相关代谢生物标志物均有所回调。

4 讨论

本研究采用复合因素方法建立大鼠脾虚模型，与空白组比较，模型组大鼠的体征发生变化，出现拱背、神态萎靡、毛色枯槁、蜷缩聚堆、易疲劳的表现。炙甘草干预后，脾虚大鼠体质量有所回调，体态行为表现接近于空白组，结肠、肝脏和胃损伤的组织形态有所改善。

本研究采用 UPLC-Q-Exactive orbitrap MS 法分析血清代谢产物，PCA 和 OPLS-DA 结果显示模型组和空白组完全分离，炙甘草组样本点趋于空白组。推测出 16 种生物标志物、7 种炙甘草干预脾虚的代谢途径，分别是醚脂代谢、视黄醇代谢、甘油磷脂代谢、嘌呤代谢、初级胆汁酸代谢、类固醇激素和类固醇生物合成通路。

水平降低；炙甘草干预后可使其回调。表明炙甘草可通过调节脂质代谢改善脾虚水湿不化，提高机体的免疫功能。

脾虚所引起的腹泻可引起胆汁酸合成代谢紊乱，影响肝肠循环^[15-16]。本研究发现，脾虚大鼠存在腹泻等症状，初级胆汁酸代谢中 7α-羟基胆甾烯-3-酮降低、牛磺胆酸水平升高，提示脾虚可能引起机体初级胆汁酸代谢紊乱，炙

甘草干预后，两者均回调至正常水平，腹泻症状改善，这可能与炙甘草可调控初级胆汁酸代谢有关。

脾虚大鼠体内角鲨烯二磷酸、孕烯醇酮、5 α -孕聚糖-20 α -醇-3-酮水平升高，引起类固醇和类固醇激素生物合成代谢异常，炙甘草干预后，三者均有所回调，提示炙甘草可能通过影响类固醇及类固醇激素生物合成从而改善脾虚证大鼠状况。

脾虚水湿不化常伴有小便不利、水肿等泌尿系统症状，与体内尿酸形成及相关嘌呤代谢产物的分解有着密切关系^[17]。5-氨基咪唑核糖核苷酸在代谢中起重要作用^[18]。本研究发现，炙甘草可以调节脾虚大鼠中 5-氨基咪唑核糖核苷酸水平，改善泌尿系统异常状况，恢复嘌呤代谢平衡。提示炙甘草干预脾虚可能与减轻肾脏的相关表征有关。

视黄醇代谢属于辅助因子和维生素代谢，在机体视力、骨骼生长发育、免疫等过程中扮演重要角色^[19-21]。脾虚大鼠体内 11-顺式视黄醇、反式-13，14-二氢视黄醇水平升高，致使大鼠眼神黯淡无神，炙甘草对脾虚大鼠干预后，其水平有所回调。

综上所述，炙甘草可能通过调节大鼠体内 16 种潜在生物标志物对 7 条代谢通路产生影响，改善脾虚证大鼠的功能异常症状，炙甘草补脾功效对于相关疾病的防治具有重要的意义。

参考文献：

[1] 衣 蕾，聂丹丽. 脾虚证的现代医学研究进展[J]. 陕西中医学院学报，2005，28(3)：59-61.

[2] 王荣荣，高 飞，吕翠霞. 张仲景从脾论治学术思想探析[J]. 江苏中医药，2020，52(2)：12-14.

[3] 孟凡征，李亚男，赵金生，等. “脾虚证”实质的现代研究进展[J]. 时珍国医国药，2019，30(12)：2975-2977.

[4] 卢雯雯，余国友. 中医“脾气虚证”与肠道微生态[J]. 国际中医中药杂志，2007，29(6)：340-342.

[5] 王轩宇，阙华发. “脾虚证”的现代研究进展[J]. 江西中医药，2022，53(2)：69-72.

[6] 王栩芮，傅文斌，孙弋淇，等. 痛泄要方缓解肝郁脾虚证腹泻型肠易激综合征患者内脏高敏的临床疗效[J]. 中国实验方剂学杂志，2022，28(9)：97-102.

[7] 范明明，韩海瑞，林 伟，等. 柴术理胃饮对肝郁脾虚型

功能性消化不良大鼠 p38MAPK、NF- κ B 表达的影响[J]. 吉林中医药，2021，41(12)：1631-1635.

[8] 杨 晔，刘 悦，张 帆，等. 基于线粒体研究论脾虚与脏腑疾病的相关性[J]. 中医杂志，2018，59(20)：1742-1746.

[9] 杨 青，周 倩. 甘草蜜炙前后对小鼠脾淋巴细胞增殖的影响[J]. 时珍国医国药，2017，28(12)：2907-2909.

[10] 孙付军，周 倩，王春芳，等. 甘草炮制前后药效学比较[J]. 中国实验方剂学杂志，2010，16(14)：115-118.

[11] 包 宇，胡宇才，黄金雨，等. 炙甘草汤调控离子通道对室性快速性心律失常作用机制的研究进展[J]. 中华中医药学刊，2022，40(8)：100-102.

[12] 杨 波，郭 晟，周承志，等. 炙甘草汤对大鼠心房肌细胞钠电流及其动力学特征的影响[J]. 时珍国医国药，2021，32(11)：2645-2648.

[13] Kouznetsova V L, Kim E, Romm E L, *et al.* Recognition of early and late stages of bladder cancer using metabolites and machine learning[J]. *Metabolomics*, 2019, 15(7)：94.

[14] 张金诚，白满英. 磷脂的营养保健功能及其发展前景的探讨和研究[J]. 中国油脂，2000，25(3)：61-64.

[15] 聂青和，张亚飞. 胆汁酸代谢[J]. 肝脏，2004，9(4)：247-249.

[16] 马 荣，谢 倩，王 建，等. 厚朴醇提物与远志醇提物配伍对大鼠粪便代谢物的影响[J]. 中国实验方剂学杂志，2019，25(11)：1-7.

[17] 李自辉，张 宁，李建华，等. 玄参干预脾虚水湿不化大鼠的脾脏代谢组学研究[J]. 中药新药与临床药理，2020，31(8)：960-968.

[18] Lawhorn B G, Mehl R A, Begley T P. Biosynthesis of the thiamin pyrimidine: the reconstitution of a remarkable rearrangement reaction[J]. *Org Biomol Chem*, 2004，2(17)：2538-2546.

[19] Reifen R, Berkovich Z, Mandelberg A. Vitamin A supplementation *via* aerosol spray in asthmatic children. [J]. *Pediatr Allergy Immunol*, 2015，26(6)：578-579.

[20] 张 银，费倩倩，汪 晶，等. 基于代谢组学研究熟三七发挥补血作用的机制[J]. 中国中药杂志，2019，44(10)：2139-2148.

[21] 张洪铭，郭文军，孙英莲，等. 基于 UPLC-Q-Exactive-MS 代谢组学技术的清肺化痰颗粒对哮喘小鼠的调控作用[J]. 中国老年学杂志，2022，42(2)：407-412.