

# 齐墩果酸对脾虚水湿内停模型小鼠异常水液代谢的影响

王珑静<sup>1</sup>, 张瑾<sup>1</sup>, 罗婕<sup>1</sup>, 李杨松<sup>1</sup>, 张桂荣<sup>1</sup>, 李彦志<sup>1</sup>, 龙飞<sup>1\*</sup>, 蒋运斌<sup>2</sup>, 吕光华<sup>1\*</sup>, 王张<sup>1</sup>  
(1. 成都中医药大学, 成都 611137; 2. 西南大学, 重庆 400715)

**[摘要]** 目的:研究齐墩果酸(OA)对脾虚水湿内停模型小鼠的水液代谢功能的影响及其作用机制。方法:将60只SPF级昆明种小鼠随机分为空白组(10只)和造模组(50只),造模组采用“久居湿地+饮食失节”的方法建立脾虚水湿内停模型。模型复制成功后将造模组小鼠随机分为模型组、自然恢复组和OA低、中、高剂量组,共5组,每组10只。空白组、模型组、自然恢复组给予10 mL·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>生理盐水灌胃,OA低、中、高剂量组分别给予50、100、200 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> OA灌胃,持续给药7 d。造模和给药前后观察小鼠的一般体征,测定小鼠体质量,使用烘干法测定小鼠粪便含水率和组织含水量,称量法检测水负荷指数和脏器系数,酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测尿D-木糖排泄量、血清胃泌素(GAS)、总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、白细胞介素-6(IL-6)、抗利尿激素(AVP)、肾髓水通道蛋白1(AQP1)及肝脏Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶等指标,并将OA与检测指标中的ALB、IL-6、AQP1和Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶进行分子对接。结果:与空白组比较,模型组小鼠毛发疏松、消瘦、倦怠懒惰、动作迟缓,体质量增长缓慢、自主活动次数减少、粪便含水率和组织含水量增加、水负荷小鼠体质量下降值减少、各脏器系数明显升高( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ );尿D-木糖排泄量明显减少,血清中GAS、TP、ALB和HDL-C的水平明显降低,TC、LDL-C、AVP、IL-6的水平明显升高,肝脏Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶表达明显降低,肾髓AQP1表达明显升高( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )。与模型组比较,OA各剂量组的一般体征明显好转,体质量增长加快,自主活动次数增加,粪便含水率和组织含水量降低,水负荷小鼠体质量下降值增加、各脏器系数明显降低( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ );尿D-木糖排泄量增加,血清中GAS、TP、ALB和HDL-C的水平升高,TC、LDL-C、AVP、IL-6的水平降低,肝脏Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶表达明显升高,肾髓AQP1表达明显降低( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )。OA各剂量组的各指标恢复效果均强于自然恢复组。分子对接结果也表明OA与ALB、IL-6、AQP1和Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶具有较强的结合亲和力。结论:OA能改善脾虚水湿内停小鼠的水液代谢异常,为其潜在临床新用途提供科学依据。

**[关键词]** 齐墩果酸; 脾虚; 水湿内停; 水液代谢异常; 小鼠

**[中图分类号]** R2-0;R33;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2023)04-0077-09

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20222342

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20221102.1530.007.html>

**[网络出版日期]** 2022-11-02 17:55:17

## Effect of Oleanolic Acid on Abnormal Water Metabolism of Mice with Water-dampness Retention Caused by Spleen Deficiency

WANG Longjing<sup>1</sup>, ZHANG Jin<sup>1</sup>, LUO Jie<sup>1</sup>, LI Yangsong<sup>1</sup>, ZHANG Guirong<sup>1</sup>, LI Yanzhi<sup>1</sup>, LONG Fei<sup>1\*</sup>,  
JIANG Yunbin<sup>2</sup>, LYU Guanghua<sup>1\*</sup>, WANG Zhang<sup>1</sup>

(1. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China;  
2. Southwest University, Chongqing 400715, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the effect of oleanolic acid (OA) on water metabolism in mice with water-dampness retention caused by spleen deficiency and the mechanism. **Method:** The 60 SPF Kunming

**[收稿日期]** 2022-06-12

**[基金项目]** 四川省科学技术厅重点研发项目(2022YFS0444);四川省中医药管理局科研项目(2021MS448);成都市科技局科技创新研发项目(2021-YF05-02298-SN)

**[第一作者]** 王珑静,在读硕士,从事中药鉴定研究,E-mail:wanglongjing@stu.cdutcm.edu.cn

**[通信作者]** \*龙飞,博士,副教授,从事中药品种、质量与资源研究,E-mail:longfei@cdutcm.edu.cn;

\*吕光华,博士,教授,博士生导师,从事中药及民族药鉴定及资源利用研究,E-mail:lughcd@aliyun.com

(KM) mice were randomized into blank group ( $n=10$ ) and modeling group ( $n=50$ ). Through long-term living in damp place and irregular diet, water-dampness retention caused by spleen deficiency was induced in modeling mice. Then the model mice were randomly classified into model group, natural recovery group, and low-dose, medium-dose, and high-dose OA groups. The mice in the blank group, model group, and natural recovery group were given (*ig*)  $10 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$  normal saline, and mice in the low-dose, medium-dose, and high-dose OA groups received  $50, 100, 200 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$  OA, respectively. The intervention lasted 7 days. Before and after modeling and administration, the general conditions of the mice were observed and body weight of mice was measured. The water content in feces and tissues was detected with the oven-drying method, and water load index and organ coefficient were measured with the weighing method. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was employed to detect the urinary *D*-xylose excretion, serum gastrin (GAS), total protein (TP), albumin (ALB), total cholesterol (TC), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), interleukin-6 (IL-6), antidiuretic hormone (AVP), aquaporin 1 (AQP1) in renal medulla, and liver  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ . At the same time, OA was docked with ALB, IL-6, AQP1, and  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ . **Result:** Compared with the blank group, the model group showed withered hair, emaciation, laziness, bradykinesia, slow weight growth, infrequent spontaneous activities, high water content in feces and tissues, low weight loss after water loading, high coefficient of each organ ( $P<0.05, P<0.01$ ). Moreover, the model group had less urinary *D*-xylose excretion, lower serum levels of GAS, TP, ALB, and HDL-C, higher levels of TC, LDL-C, AVP, and IL-6, lower expression of  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  in the liver, and higher expression of AQP1 in renal medulla than the blank group ( $P<0.05, P<0.01$ ). The three OA groups demonstrated better general conditions, faster weight gain, more frequent spontaneous activities, lower water content in feces and tissues, larger weight loss after water loading, and lower coefficient of each organ than the model group ( $P<0.05, P<0.01$ ). Moreover, compared with the model group, the three OA groups had high *D*-xylose excretion, high serum levels of GAS, TP, ALB, and HDL-C, low serum levels of TC, LDL-C, AVP, and IL-6, high expression of  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  in liver, and low expression of AQP1 in renal medulla ( $P<0.05, P<0.01$ ). The recovery in each OA group was better than that in natural recovery group. Molecular docking results also confirmed that OA had high binding affinity with ALB, IL-6, AQP1, and  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ . **Conclusion:** OA can alleviate the abnormal water metabolism in mice with water-dampness retention caused by spleen deficiency, which lays a basis for its potential clinical application.

**[Keywords]** oleanolic acid; spleen deficiency; water-dampness retention; abnormal water metabolism; mice

津液是人体一切正常水液的总称,其生成、输布和排泄主要由肺、脾、肾和三焦共同调节<sup>[1]</sup>。其中,“脾主湿”为水液代谢的枢纽<sup>[2]</sup>,对于维持体内津液平衡起着重要的作用。若脾运化水液的功能健旺,则能使体内各种组织器官得到充分的滋润和濡养。反之,若久居湿气较盛之地以致水湿侵袭体内,或饮食不节,过度劳倦而内伤脾胃,以致脾为湿困,津液输布代谢功能发生障碍,则脾虚失运,可能引起机体各生理功能的紊乱。

齐墩果酸(OA),是一种存在于植物中的五环三萜类化合物,最早被我国湖南医药工业研究所开发作为急性慢性肝炎的辅助用药<sup>[3]</sup>,在印度、美国和欧洲国家等,常被用作补充和替代药物<sup>[4]</sup>。国内外研究

表明,OA不仅具有高效的抗肝炎作用,还具有利尿<sup>[5]</sup>、护肾<sup>[6-7]</sup>、降脂<sup>[8]</sup>、降糖<sup>[9]</sup>、抗癌<sup>[10-11]</sup>和抗高血压<sup>[12]</sup>等作用。课题组前期对具有利尿作用的中药丝瓜子的质量研究中发现OA的含量较高。经查阅相关文献及专著,统计发现OA存在于近80%的化湿药与利湿药中,如广藿香、车前子、木通、川木通、茯苓、香加皮和虎杖等中药<sup>[13-19]</sup>,且有研究报道OA具有中等强度的利尿作用<sup>[20-21]</sup>,其可能是中药祛湿作用的物质基础之一。因此,本文首次采用小鼠脾虚水湿内停模型开展药理实验,并结合分子对接技术,进一步探索OA对水液代谢异常的影响及其作用机制,为其潜在的临床新用途提供科学依据。

## 1 材料

**1.1 动物** SPF级昆明小鼠,60只,雌雄各半,体质量18~22 g,购自成都达硕实验动物有限公司,动物合格证号SCXK(川)2020-030,在成都中医药大学实验动物房适应性饲养1周,动物使用许可证号SYXK(川)2020-124。实验动物均经成都中医药大学实验动物伦理委员会批准。

**1.2 试剂** D-木糖(四川萃益润生物科技有限公司,批号CYR-M0046200703);OA(成都普思生物科技有限公司,批号PS000728);D-木糖、胃泌素(GAS)、总蛋白(TP)、总胆固醇(TC)、白蛋白(ALB)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、白细胞介素-6(IL-6)、抗利尿激素(AVP)、肾髓质水通道蛋白1(AQP1)、肝脏 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒[安迪生物科技(上海)有限公司,批号202108]。

**1.3 仪器** RXM-358C型人工气候箱(宁波东南仪器有限公司),Spectra Max i3型酶标仪[美谷分子仪器(上海)有限公司],Allegra X-64R型离心机(美国贝克曼库尔特有限公司),SQP型1/10万天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司],DHG-9240A型电热恒温鼓风干燥箱(上海齐欣科学仪器有限公司),ZZ-6型小鼠自主活动测试仪(成都泰盟科技有限公司)。

## 2 方法

**2.1 模型制备** 参照文献[22-23],每日10:00~18:00将模型小鼠置于湿度为 $90\%\pm 5\%$ 、温度为 $(22\pm 2)^\circ\text{C}$ 的人工气候箱<sup>[24-25]</sup>,持续刺激8 h,同时鼠笼底部覆盖潮湿的锯末,模拟“久居湿地”;单日常禁食,双日给予充足的高脂高糖饲料,模拟“饮食失节”;连续造模20 d,且每天观察小鼠的毛发状态、饮食饮水、大便质地、行为活动、体质量增长等一般状况的变化情况。若小鼠出现毛发疏松无光泽、饮食及饮水减少、消瘦、倦怠懒动、大便稀溏及自主活动减少等症状,提示造模成功<sup>[26]</sup>。

**2.2 分组与给药** 将50只造模组小鼠随机分为5组,每组10只,分别为模型组、自然恢复组、OA低、中、高剂量组。再随机选取在湿度55%,温度 $22^\circ\text{C}$ 的环境下正常饲养的10只小鼠,作为空白组。自然恢复组在造模20 d后,恢复正常环境饲养。各组的给药类别和剂量如下,空白组、模型组、自然恢复组以生理盐水灌胃;OA低、中、高剂量组分别为50、100、200  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ (参照OA成人服用剂量标准以及相关文献中的给药剂量<sup>[27-29]</sup>),相当于60 kg体质量

成人每日用量的3、6、12倍,按动物体型系数换算小鼠剂量)。各组小鼠灌胃体积均为 $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ,连续给药7 d。

### 2.3 检测指标

**2.3.1 小鼠一般体征观察** 于造模期间第1、5、10、15、20天称定并记录小鼠的体质量,并每日观察小鼠的精神状态、活动情况、大小便状况以及毛色光泽度等。造模结束后,在给药前后称定小鼠体质量。

**2.3.2 小鼠自主活动次数** 采用ZZ-6型小鼠自主活动测试仪检测小鼠的自主活动。先将小鼠置于测试仪内适应2 min,随即开始记录小鼠5 min内的自主活动次数。

**2.3.3 水负荷实验** 小鼠禁食不禁水12 h后,称量体质量,作为正常值。然后各组腹腔注射生理盐水 $20\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,造成水钠潴留状态。30 min后,各组立即灌胃给药,分别在给药后的0、1、2、4、6 h称量体质量,并记录6 h的尿量。实验期间,各组小鼠均禁食、禁水,记录每个时间点的体质量下降值。

**2.3.4 烘干法检测粪便含水率** 参照文献方法<sup>[30]</sup>,收集小鼠粪便,于 $80^\circ\text{C}$ 烘箱内干燥24 h,取出放凉,称定干重。再放入烘箱干燥1 h,取出晾凉后称重。两次质量差值不超过3 mg,即认为质量恒定。粪便含水率 $=\frac{\text{湿重}-\text{干重}}{\text{湿重}}\times 100\%$ 。

**2.3.5 称量法检测脏器系数** 各组动物处死后,迅速将心、肝、脾、肺、肾五脏取出,电子天平称重,记录数值,计算各脏器系数。

**2.3.6 烘干法检测组织含水量** 小鼠处死后,取背部相同大小的皮肤组织,称质量后放入 $80^\circ\text{C}$ 烘箱内连续烘烤72 h,取出后再次称质量。组织含水量 $=\frac{\text{组织湿重}-\text{组织干重}}{\text{组织湿重}}\times 100\%$ 。

**2.3.7 ELISA检测小鼠尿液、血清、肾髓和肝脏中相关指标的含量** 各组小鼠禁食12 h,给予3% D-木糖灌胃, $20\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,将小鼠置于代谢笼中,收集小鼠5 h尿液;各组小鼠禁食不禁水12 h,摘眼球取血, $3\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心15 min(离心半径10 cm,下同),吸取上层血清;小鼠处死后立即取出肾髓、肝脏进行组织匀浆, $3\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心20 min,吸取上层清液。对尿液中D-木糖,血清中GAS、TP、ALB、TC、HDL-C、LDL-C、IL-6和AVP,肾髓中AQP1及肝脏中 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 酶,按照ELISA试剂盒说明书进行检测。

**2.3.8 统计学方法** 所有数据采用SPSS 17.0软件进行统计学分析,用 $\bar{x}\pm s$ 表示。组间比较采用单因

素方差分析,两两比较采用最小显著性差异法(LSD)检验;若方差不齐,采用Games-Howell检验,以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

**2.4 部分指标蛋白与OA的分子对接** 选择检测指标中的ALB、IL-6、AQP1、 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶作为受体,OA作为配体,进行分子对接试验。在PDB数据库下载ALB(4L8U)、IL-6(1ALU)、AQP1(1J4N)、 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶(3B8E)的PDB结构文件,从PubChem数据库下载OA的SDF结构文件,并通过OpenBabel 2.4.1软件转换成PDB格式。用Autodock 1.5.6软件和PyMol 2.4软件准备受体和OA。根据受体蛋白上的原配体,使用Autodock Vina 1.1.2软件对靶点和OA进行分子对接。

### 3 结果

#### 3.1 对小鼠一般体征的影响 空白组小鼠食欲良

好,体质量均匀增加,活泼好动,被毛白净浓密、顺滑有光泽;与空白组比较,模型小鼠饮食饮水量减少,体质量增加缓慢,精神萎靡,弓背,眯眼,身体瘦弱,大便稀溏,被毛蓬松竖立无光泽;给药后,与模型组比较,给药组小鼠症状有所好转,自然恢复组小鼠状态改善不明显。

**3.2 对小鼠体质量增长的影响** 造模第1天,与空白组比较,模型组小鼠体质量差异无统计学意义;随着造模时间的延长,空白组小鼠体质量均匀增长,而模型组小鼠体质量增长缓慢,造模时间越久,与空白组体质量差异越大,差异具有统计学意义( $P<0.01$ ),见表1。给药前,与空白组比较,造模各组小鼠体质量均显著降低( $P<0.01$ );给药后,与模型组比较,OA各剂量组小鼠体质量均明显增加( $P<0.05$ ),自然恢复组体质量无明显恢复效果,见表2。

表1 造模对小鼠体质量增长的影响( $\bar{x}\pm s$ )

Table 1 Effect of modeling on body weight gain in mice ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	1 d	5 d	10 d	15 d	20 d
空白组	10	21.21±1.40	24.89±2.20	27.78±1.93	30.53±2.25	30.62±2.48
模型组	50	20.84±0.93	21.53±1.21 <sup>2)</sup>	22.37±1.47 <sup>2)</sup>	26.38±1.26 <sup>2)</sup>	24.40±0.86 <sup>2)</sup>

注:与正常组比较<sup>1)</sup> $P<0.05$ ,<sup>2)</sup> $P<0.01$ ;与模型组比较<sup>3)</sup> $P<0.05$ ,<sup>4)</sup> $P<0.01$ (表2-表9同)

表2 OA给药前后对小鼠体质量增长的影响( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

Table 2 Effect of OA administration on body weight gain in mice ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	给药前体质量	给药后体质量
空白组		30.62±2.47	30.08±3.10
模型组		24.40±0.86 <sup>2)</sup>	26.47±1.31 <sup>2)</sup>
自然恢复组		23.01±1.56	26.77±1.10
OA低剂量组	50	22.78±2.00	28.60±1.59 <sup>3)</sup>
OA中剂量组	100	22.57±1.89	28.91±1.78 <sup>3)</sup>
OA高剂量组	200	24.53±2.43	28.65±1.55 <sup>3)</sup>

#### 3.3 对小鼠自主活动次数、粪便含水率、组织含水量的影响 与空白组比较,模型组小鼠自主活

数减少,粪便含水率、组织含水量显著升高( $P<0.01$ );与模型组比较,OA各组活动次数增加( $P<0.01$ ),粪便含水率和组织含水量显著降低( $P<0.01$ ),且各给药组比自然恢复组效果更为显著。见表3。

**3.4 对小鼠水负荷后体质量下降值的影响** 给予小鼠生理盐水负荷后,与空白组比较,模型组小鼠的体质量下降值显著减少,水液代谢能力显著降低( $P<0.01$ );与模型组比较,OA各给药组小鼠体质量下降值均显著增加,水液代谢能力均显著增强( $P<0.01$ )。见表4。

表3 OA对小鼠自主活动、粪便含水率和组织含水量的影响( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

Table 3 Effect of OA on autonomous activity, fecal and tissue water content of mice ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	自主活动次数/次	粪便含水率/%	组织含水量/%
空白组		96.13±20.85	50.75±2.71	57.26±2.70
模型组		57.63±11.25 <sup>2)</sup>	78.90±3.85 <sup>2)</sup>	68.52±8.57 <sup>2)</sup>
自然恢复组		74.00±15.58	58.56±2.20	63.72±2.20
OA低剂量组	50	95.50±16.47 <sup>4)</sup>	48.71±3.77 <sup>4)</sup>	60.23±3.41 <sup>4)</sup>
OA中剂量组	100	95.25±18.98 <sup>4)</sup>	59.57±4.10 <sup>4)</sup>	60.05±3.17 <sup>4)</sup>
OA高剂量组	200	94.63±18.75 <sup>4)</sup>	60.68±4.30 <sup>4)</sup>	58.16±2.21 <sup>4)</sup>

表4 OA对小鼠水负荷后体质量下降值的影响( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

Table 4 Effect of OA on weight loss of mice ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	0~1 h	1~2 h	2~4 h	4~6 h	总计
空白组		1.10±0.19	0.62±0.21	0.42±0.17	0.40±0.14	2.53±0.44
模型组		0.86±0.08 <sup>1)</sup>	0.39±0.11 <sup>1)</sup>	0.31±0.11	0.26±0.09 <sup>1)</sup>	1.82±0.16 <sup>2)</sup>
自然恢复组		0.88±0.35	0.49±0.15	0.29±0.06	0.34±0.15	1.99±0.38
OA低剂量组	50	1.08±0.13	0.49±0.22	0.58±0.27 <sup>4)</sup>	0.45±0.12 <sup>4)</sup>	2.60±0.33 <sup>4)</sup>
OA中剂量组	100	1.10±0.26 <sup>3)</sup>	0.59±0.18	0.43±0.11	0.29±0.06	2.40±0.43 <sup>4)</sup>
OA高剂量组	200	0.98±0.28	0.68±0.40 <sup>3)</sup>	0.50±0.16 <sup>3)</sup>	0.44±0.14 <sup>4)</sup>	2.61±0.39 <sup>4)</sup>

3.5 对小鼠脏器系数的影响 动物模型复制成功后,与空白组比较,模型组各脏器系数均有不同程度升高,差异具有统计学意义( $P<0.01$ );与模型组比

较,OA各给药组的各脏器系数均显著降低,差异具有统计学意义( $P<0.05, P<0.01$ ),且改善效果均优于自然恢复组。见表5。

表5 OA对小鼠脏器系数的影响( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

Table 5 Effect of OA on changes of organ coefficients of mice ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	心脏	肝脏	脾脏	肺脏	肾脏
空白组		52.61±5.49	452.64±29.92	28.54±4.28	72.39±5.58	127.35±23.20
模型组		65.44±5.60 <sup>2)</sup>	586.10±32.70 <sup>2)</sup>	40.87±7.21 <sup>2)</sup>	105.43±6.40 <sup>2)</sup>	169.31±14.15 <sup>2)</sup>
自然恢复组		61.46±7.77	519.11±35.92	35.03±5.40	99.95±3.59 <sup>3)</sup>	157.02±21.13
OA低剂量组	50	50.78±3.55 <sup>4)</sup>	469.74±37.89 <sup>4)</sup>	28.31±2.63 <sup>4)</sup>	81.54±11.77 <sup>4)</sup>	127.42±12.27 <sup>4)</sup>
OA中剂量组	100	58.16±2.87 <sup>4)</sup>	470.76±20.89 <sup>4)</sup>	30.37±6.18 <sup>4)</sup>	77.48±8.77 <sup>4)</sup>	143.44±23.58 <sup>3)</sup>
OA高剂量组	200	58.03±4.45 <sup>4)</sup>	464.78±34.96 <sup>4)</sup>	28.25±6.67 <sup>4)</sup>	80.79±5.51 <sup>4)</sup>	138.86±27.30 <sup>4)</sup>

3.6 对尿D-木糖排泄量与血清GAS含量的影响

与空白组比较,各组小鼠尿液中D-木糖含量与血清GAS含量均显著降低( $P<0.01$ )。与模型组比较,OA低剂量组小鼠尿D-木糖排泄量显著升高( $P<0.01$ ),且改善效果强于自然恢复组;OA低、中剂量组血清GAS含量明显升高( $P<0.05, P<0.01$ )。见表6。

表6 OA对小鼠尿D-木糖排泄量与血清GAS的影响( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

Table 6 Effect of OA on urinary D-xylose excretion and serum GAS of mice ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	尿D-木糖排泄量/mg	GAS/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
空白组		19.84±2.51	85.84±8.79
模型组		13.18±0.87 <sup>2)</sup>	65.63±5.07 <sup>2)</sup>
自然恢复组		14.48±1.81 <sup>2)</sup>	66.87±7.08 <sup>2)</sup>
OA低剂量组	50	17.23±2.21 <sup>4)</sup>	73.31±5.70 <sup>3)</sup>
OA中剂量组	100	14.44±1.85	75.57±3.25 <sup>4)</sup>
OA高剂量组	200	12.91±1.06	66.99±5.25

3.7 对血清生化指标与肝脏Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶的影响

与空白组比较,模型组小鼠TP、ALB、HDL-C水平均明显降低( $P<0.05, P<0.01$ ),TC、LDL-C水平明显升高( $P<0.05, P<0.01$ )。与模型组比较,OA低剂

量组各指标均明显改善( $P<0.05, P<0.01$ );OA中剂量组HDL-C水平显著升高( $P<0.01$ ),TC、LDL-C的水平显著降低( $P<0.01$ );OA高剂量组TC、LDL-C的水平明显降低( $P<0.05, P<0.01$ )。与空白组比较,模型组的Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶含量显著降低( $P<0.01$ );与模型组比较,OA低、高剂量组的Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶均明显升高( $P<0.05$ )。见表7。

3.8 对血清AVP与肾髓AQP1的影响 与空白组比较,模型组的血清AVP和肾髓AQP1的含量均显著升高( $P<0.01$ );与模型组比较,OA低、高剂量组AVP含量均显著降低( $P<0.01$ ),OA低、中、高剂量组AQP1含量显著降低( $P<0.05, P<0.01$ )。见表8。

3.9 对小鼠血清IL-6的影响 与空白组比较,模型组小鼠的IL-6的含量显著升高( $P<0.01$ );与模型组比较,OA低、高剂量组的IL-6含量均明显降低( $P<0.05$ )。见表9。

3.10 分子对接结果 检测指标中ALB、IL-6、AQP1及Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶与OA对接结合能分别为-11.9、-7.8、-7.3、-8.9 kcal·mol<sup>-1</sup>(1 cal≈4.186 J),4个蛋白与OA的结合能均≤-7.0 kcal·mol<sup>-1</sup>,这说明OA与这4个蛋白具有很强的结合活性。对接可视化效果见图1。

表7 OA对小鼠血清生化指标及肝脏Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP的影响( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

Table 7 Effect of OA on serum biochemical index and Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase in liver of mice ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	TP/g·L <sup>-1</sup>	ALB/g·L <sup>-1</sup>	TC/mmol·L <sup>-1</sup>	HDL-C/mmol·L <sup>-1</sup>	LDL-C/mmol·L <sup>-1</sup>	Na <sup>+</sup> -K <sup>+</sup> -ATPase/mol·L <sup>-1</sup>
空白组		49.21±7.88	29.69±1.75	13.21±3.87	2.24±0.10	6.37±0.67	22.46±1.39
模型组		38.70±7.01 <sup>2)</sup>	25.37±2.84 <sup>1)</sup>	15.49±1.08 <sup>1)</sup>	1.76±0.10 <sup>2)</sup>	7.39±0.36 <sup>2)</sup>	17.87±0.53 <sup>2)</sup>
自然恢复组		40.70±4.90	27.55±6.02	14.84±1.20	1.81±0.10	6.61±0.64 <sup>3)</sup>	17.41±2.16
OA低剂量组	50	45.09±6.27 <sup>3)</sup>	31.50±2.07 <sup>4)</sup>	12.78±2.27 <sup>3)</sup>	2.16±0.12 <sup>4)</sup>	6.48±0.84 <sup>3)</sup>	19.34±1.16 <sup>3)</sup>
OA中剂量组	100	42.56±3.68	29.64±5.05	12.31±2.01 <sup>4)</sup>	2.14±0.17 <sup>4)</sup>	5.85±0.37 <sup>4)</sup>	18.32±0.91
OA高剂量组	200	44.55±4.38	29.07±2.79	12.70±1.00 <sup>3)</sup>	1.87±0.06	6.43±0.97 <sup>4)</sup>	19.50±1.00 <sup>3)</sup>

表8 OA对小鼠血清AVP与肾髓AQP1的影响( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

Table 8 Effect of OA on serum AVP and renal medulla AQP1 of mice ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	AVP/mg·L <sup>-1</sup>	AQP1/μg·L <sup>-1</sup>
空白组		59.69±5.11	7.93±0.80
模型组		67.85±8.24 <sup>2)</sup>	9.36±0.91 <sup>2)</sup>
自然恢复组		64.13±4.21	8.73±0.69
OA低剂量组	50	57.13±3.90 <sup>4)</sup>	8.03±0.81 <sup>4)</sup>
OA中剂量组	100	65.58±3.32	8.16±0.60 <sup>4)</sup>
OA高剂量组	200	59.60±4.12 <sup>4)</sup>	8.26±1.13 <sup>3)</sup>

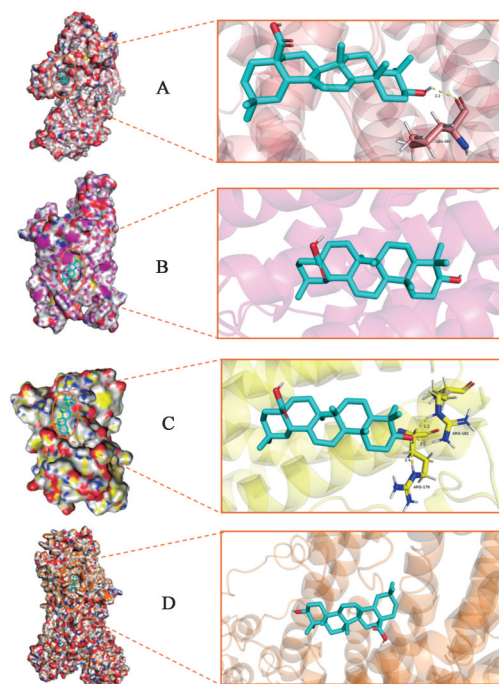
表9 OA对小鼠血清IL-6的影响( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

Table 9 Effect of OA on serum IL-6 of mice ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	IL-6/ng·L <sup>-1</sup>
空白组		107.14±11.57
模型组		120.78±15.40 <sup>2)</sup>
自然恢复组		110.96±8.06
OA低剂量组	50	99.17±7.20 <sup>3)</sup>
OA中剂量组	100	106.53±6.37
OA高剂量组	200	96.82±7.00 <sup>3)</sup>

#### 4 讨论

《黄帝内经·素问·至真要大论》曰：“诸湿肿满，皆属于脾”，脾在维持体内津液的平衡中起着重要作用。在中医理论中，脾喜燥恶湿，“湿”分为外湿和内湿，脾虚不运而生湿，湿邪过多则困于脾，即“脾虚生湿”“湿困脾土”，二者互为因果，形成恶性循环<sup>[1]</sup>。由此来看，外湿和内湿成因不同，但会在发病中相互影响，外湿致病首先伤脾，脾失健运，则内湿滋生，而内湿之体更易招致外湿侵袭，阻滞中焦脾胃，导致水液在体内停聚而产生水、湿、痰、饮等病理产物，甚至导致水肿<sup>[31]</sup>。本研究模拟“久居湿地，外湿过剩”致使湿邪入侵而困遏脾阳；再采用“饥饱失常，饮食失节”致使脾运化功能失常，湿浊内生，水液停聚，由此诱导小鼠形成脾虚水湿内停



注：A.ALB；B.AQP1；C.IL-6；D.Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase

图1 分子对接结果

Fig. 1 Molecular docking results

模型。

OA广泛存在于具有祛湿作用的中药中，且有研究表明以OA为主的三萜类成分是该类中药发挥作用的物质基础<sup>[32-36]</sup>，其可能对湿邪所致的水液代谢异常有一定的调节或改善作用。因此，对脾虚水湿内停模型小鼠给予OA进行治疗，通过观察、测定各指标来探究OA对水液代谢异常小鼠的机体各生理功能的影响。

脾为后天之本，气血生化之源，其运化水谷精微，为生命过程的正常运转提供所需能源。若脾虚失运，会出现气血生化不足，四肢百骸则不得濡养而功能减退，因而模型小鼠出现毛发疏松无光泽、乏力、动作迟缓、自主活动减少、体质量增长缓慢等状况<sup>[37-38]</sup>。经自然恢复1周后，小鼠状态恢复不佳，

而给予OA治疗后,小鼠毛发枯槁、疲倦懒动等症状均有不同程度改善,体质量增长速度也恢复正常。

脾居中焦,主运化水湿,是机体维持水液代谢平衡的重要枢纽。若脾虚而运化功能失常,则水湿运化不畅,停聚于机体局部,造成水钠潴留,泛溢于肌肤则发为水肿,停于肠道则可致泄泻。模型小鼠皮肤组织含水量升高,水负荷后尿量、体质量下降值减少,反映了脾虚水湿内停小鼠体内水液分布异常、潴留时间长的情况<sup>[39]</sup>;湿浊内生,“湿盛则濡泻”,脾失健运,水液运化不利,则出现了泄泻、便溏的症状。经治疗后,OA各剂量组小鼠的组织含水量显著降低,便溏情况也有所改善,水负荷后尿量相对增多,体质量下降更多,而自然恢复组无明显改善情况,表明OA可有效促进水液代谢,对模型小鼠具有一定的治疗作用。

脾与胃同居中焦,二者互为表里。《类经·藏象类》曰:“脾主运化,胃司受纳”。若湿邪伤脾致使脾失健运而湿阻中焦,则会导致一系列胃肠消化、吸收及运动障碍等异常<sup>[40]</sup>。GAS是胃肠道主要激素之一,其主要生理功能是促进胃酸、胃蛋白酶的分泌,促进胃肠平滑肌的收缩,从而促进肠胃运动<sup>[41]</sup>。当脾胃运化功能发生障碍时,血清及细胞内GAS水平会发生紊乱<sup>[42]</sup>,这是中医对脾虚水湿不化证的诊断和疗效评价的重要指标<sup>[43]</sup>。D-木糖是一种戊糖,只能经小肠吸收,不能被机体代谢,反映小肠吸收功能的强弱,其含量的降低是评判脾虚的重要客观指标<sup>[44]</sup>。实验结果显示,模型组小鼠GAS水平显著降低、D-木糖排泄量降低,一定程度上表明脾虚水湿内停模型小鼠出现的脾气虚弱,脾运化功能受损的状况。而低、中剂量的OA可显著改善模型小鼠小肠对D-木糖的吸收代谢,促进GAS的分泌,提高其相应的胃肠消化吸收功能。

脾的运化有赖于肝的疏泄。肝通过调畅气机以助脾胃之气的升降,促进脾胃运化功能,从而影响津液的输布。但若湿邪伤脾,脾失健运,生化乏源,则肝得不到濡养,疏泄不畅,气滞水停,可表现为能量代谢水平降低<sup>[45]</sup>。Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶能够体现能量代谢状态,模型小鼠肝脏Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶含量明显受到抑制,表现为乏力、倦怠,自发活动次数减少的症状,即“湿盛则阳微”。同时,肝功能降低时会导致蛋白合成下降,而白蛋白的合成全部在肝脏中完成,其水平的降低是水肿发生的直接指标<sup>[46]</sup>。血脂是人体代谢的必需物质,若肝功能低下,血脂水平也会发生异常变化,而血脂异常与中医的“痰湿”

相似。若脾运化功能失调,水湿内生,凝聚成痰,痰浊水湿内盛,引发血脂的变化<sup>[47]</sup>。本研究结果表明,脾虚水湿内停模型小鼠的肝疏泄功能受到了一定影响,TP、ALB、HAL-C水平显著降低,TC、LDL-C水平显著升高。经OA治疗后,模型小鼠蛋白、血脂及肝脏ATP酶的水平得到一定的调节与改善,表明OA可能改善脾虚水湿内停模型小鼠的肝脏代谢功能,肝疏泄正常,气机通畅,从而帮助恢复脾的运化功能。

肾与脾分别为先天和后天之本,共同主司津液代谢的协调平衡。肾主水,具有主持和调节人体水液代谢的功能。肾气可促进脾气运化水液;脾主运化,输布津液而使肾升清降浊,防止水湿停聚。血管加压素(AVP),又称抗利尿激素(ADH),是尿液浓缩和稀释过程中的关键性调节激素,其在肾脏中的主要功能是促进水的重吸收<sup>[48]</sup>。水通道蛋白(AQPs)是一种介导水跨膜转运的膜蛋白,参与水的分泌、吸收及细胞内外水的平衡,是维持体内水液代谢平衡的分子基础<sup>[49]</sup>。AQP1是唯一表达于肾脏近曲小管上皮细胞的水通道<sup>[50]</sup>,主要介导原尿的重吸收与浓缩过程。实验结果表明,模型小鼠的血清AVP、肾脏AQP1水平升高,表现为尿少,而低、高剂量的OA能显著降低模型小鼠AVP、AQP1水平,尿量增加。由此可推测,由于湿邪伤脾,脾失健运,体内水液输布障碍,从而影响肾主水功能。肾脏渗透性和重吸收能力异常,尿量减少,为维持平衡而上调AVP与AQP1的水平。而OA可以降低AVP和肾脏AQP1的水平,改善肾脏尿浓缩功能,纠正水液代谢平衡紊乱,促进水液代谢功能的恢复<sup>[51]</sup>。

中医认为“四季脾旺不受邪”“脾为之卫”。由此可见中医脾的功能与现代医学中脾脏的免疫功能密切相关<sup>[52]</sup>。中医临床研究证实湿证与炎症有正相关的关系<sup>[53-54]</sup>,湿邪伤脾,导致机体免疫功能发生紊乱产生炎症反应<sup>[55]</sup>。IL-6为淋巴类和非淋巴类细胞产生的一种多功能炎症细胞因子,具有广泛的促炎作用。本研究中,模型组小鼠血清IL-6水平明显高于空白组,经OA治疗后,模型小鼠IL-6的水平显著降低,这表明OA可以在一定程度上抑制促炎因子IL-6的表达,机体免疫功能得到恢复。

本文也同时将OA与动物药理实验检测指标中ALB、IL-6、AQP1及Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶进行虚拟分子对接,一般认为当配体与受体结合能 $\leq -5.0$  kcal·mol<sup>-1</sup>时,表明两者结合良好,结合能 $\leq -7.0$  kcal·mol<sup>-1</sup>时则表明有强的结合活性,并且该值越低,表示化合物

与蛋白质结合越稳定,分子相互作用就越强<sup>[56-57]</sup>。对接结果显示,OA与这4个靶点的结合能均 $\leq -7.0 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ ,具有很强的结合活性,且主要是通过与活性中心的氨基酸残基形成较强氢键作用,或与疏水性残基形成疏水作用和共轭作用来进行结合。该结果与药理实验的结果相符合,进一步证实了OA对水液代谢相关蛋白水平的调节作用。

综上所述,脾虚水湿内停模型小鼠的水液代谢异常可引起其一般状况、脾胃运化功能、肝脏的物质能量代谢功能、肾的水液调节功能、免疫等各机体方面功能的异常。OA对模型小鼠各方面的功能异常均有不同程度地改善与调节作用,其中以低剂量OA的治疗效果最佳,高剂量组作用不如低、中剂量组,可能是因给药浓度过高,反而增加了机体的代谢负担,从而药效降低。

本研究结果表明,OA能在一定程度上改善模型小鼠的脾虚水湿内停症状,提高脾运化功能,促进水液代谢,从而改善湿邪伤脾所致的肝、肾及免疫等机体各方面功能的异常,其可能为中药祛湿作用的物质基础之一。目前,对于“老药新用”研究方兴未艾,有不少老药焕发了新机。这些老药物往往普及程度更广,有效性和安全性也积累了更多证据。本研究结果有助于拓展经典老药“OA”的新功效,为其临床新用提供了科学依据。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

#### [参考文献]

[1] 李德新. 中医基础理论[M]. 北京:人民卫生出版社, 2001:73-75.

[2] 王玉芳. 从“病机十九条”看中医辨病机的方法和内容[J]. 江西中医学院学报, 2010, 22(2):8-9.

[3] 周震宇, 沈心. 齐墩果酸片的含量测定[J]. 中国药品标准, 2019, 20(6):505-509.

[4] LIU J, LU Y F, WU Q, et al. Oleanolic acid reprograms the liver to protect against hepatotoxicants, but is hepatotoxic at high doses[J]. *Liver Int*, 2019, 39:427-439.

[5] MAPANGA R F, TUFTS M A, SHODE F O, et al. Renal effects of plant-derived oleanolic acid in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Ren Fail*, 2009, 31:481-491.

[6] DING Y J, SUN C Y, WEN C C, et al. Nephroprotective role of resveratrol and ursolic acid in aristolochic acid intoxicated zebrafish [J]. *Toxins (Basel)*, 2015, 7(1):97-109.

[7] MA J Q, DING J, XIAO Z H, et al. Ursolic acid

ameliorates carbon tetrachloride-induced oxidative DNA damage and inflammation in mouse kidney by inhibiting the STAT3 and NF- $\kappa$ B activities [J]. *Int Immunopharmacol*, 2014, 21(2):389-395.

[8] 王石峰, 翟晨曦, 刘青, 等. 齐墩果酸抑制3T3-L1脂肪细胞脂质堆积[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2014, 16(6):1353-1358.

[9] 徐立, 王冲. 齐墩果酸抗糖尿病的研究进展与展望[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(8):228-234.

[10] PRATHEESHKUMAR P, KUTTAN G. Oleanolic acid induces apoptosis by modulating p53, Bax, Bcl-2 and Caspase-3 gene expression and regulates the activation of transcription factors and cytokine profile in B16F [J]. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 2011, 30(1):21-31.

[11] ZHAO X, LIU M, LI D. Oleanolic acid suppresses the proliferation of lung carcinoma cells by miR-122/Cyclin G1/MEF2D axis [J]. *Mol Cell Biochem*, 2015, doi:10.1007/s11010-014-2228-7.

[12] 张明发, 沈雅琴. 熊果酸和齐墩果酸的血管药理作用研究进展[J]. 药物评价研究, 2017, 40(10):1510-1519.

[13] 陈嘉颖, 马钢华, 钱菲, 等. 广藿香中非挥发性化学成分研究[J]. 中草药, 2021, 52(5):1240-1251.

[14] 王月, 彪雅宁, 储心乔, 等. 车前子对腹泻大鼠炎症因子和结肠组织AQP4 mRNA和蛋白表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(20):52-58.

[15] 刘岩庭, 侯雄军, 谢月, 等. 木通属植物化学成分及药理作用研究进展[J]. 江西中医学院学报, 2012, 24(4):87-93.

[16] 唐远, 万德光, 裴瑾, 等. 川木通的研究进展[J]. 时珍国医国药, 2007, doi: 10.3969/j. issn. 1008-0805. 2007. 10. 008.

[17] 林思, 秦慧真, 邓玲玉, 等. 虎杖苷药理作用及机制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(22):241-250.

[18] 崔鹤蓉, 王睿林, 郭文博, 等. 茯苓的化学成分、药理作用及临床应用研究进展[J]. 西北药学杂志, 2019, 34(5):694-700.

[19] 杨雪, 李梦雨, 颜昌铎, 等. 香加皮的化学成分与药理作用研究进展及质量标志物的预测分析[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(12):2772-2783.

[20] MAPANGA R F, TUFTS M A, SHODE F O, et al. Renal effects of plant-derived oleanolic acid in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Ren Fail*, 2009, 31(6):481-491.

[21] ALVAREZ M E, MARIA A O M, SAAD J R. Diuretic activity of fabiana patagonica in rats [J]. *Phytother Res*, 2002, 16(1):71-73.

- [22] 张六通. 关于外感湿邪致病机理的研究[J]. 湖北中医药大学学报, 1999, 1(1): 5-6.
- [23] 张丰华, 黄秀深, 刘伟, 等. 湿困脾胃证动物模型的实验研究—宏观体征研究[J]. 成都中医药大学学报, 2008, 31(2): 37-40.
- [24] GUO Y R, GUO H Y, QIU L Y, et al. Appetite suppression and interleukin 17 receptor signaling activation of colonic mycobiota dysbiosis induced by high temperature and high humidity conditions [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11: 657807.
- [25] 赖鹏华, 王彦晖, 何宽其, 等. 人工气候箱在“六淫”研究中的应用[J]. 中医杂志, 2014, 55(12): 1071-1073.
- [26] 高洁. 基于复合因素的大鼠脾虚水湿不化模型的建立与评价[D]. 济南: 山东中医药大学, 2015.
- [27] AHN Y M, CHOI Y H, YOON J J, et al. Oleanolic acid modulates the renin-angiotensin system and cardiac natriuretic hormone concomitantly with volume and pressure balance in rats [J]. *Eur J Pharmacol*, 2017, doi:10.1016/j.ejphar.2017.05.030.
- [28] 顾锦华, 黄华, 薛华, 等. 齐墩果酸对糖尿病小鼠胰岛损伤的保护作用[J]. 中草药, 2010, 41(11): 1866-1870.
- [29] 郝志奇, 杭秉茜, 王瑛. 齐墩果酸对小鼠的降血糖作用[J]. 中国药科大学学报, 1991, 22(4): 210-212.
- [30] 陈静, 李斌, 孙云超. 白术对脾虚水湿内停大鼠的利尿药效物质研究[J]. 辽宁中医杂志, 2016, 43(10): 2210-2213.
- [31] 汪海东, 吴晴, 王秀薇, 等. 中医湿病的现代认识[J]. 中医杂志, 2015, 56(13): 1089-1092.
- [32] 张昕. 磨盘草化学成分和药效物质基础研究及香草酸的含量测定[D]. 南宁: 广西中医药大学, 2018.
- [33] 张雪松. 木通药理活性成分及质量控制的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2010.
- [34] 黄小强, 张雪, 李小艳, 等. 泽泻不同提取部位对大鼠的利尿作用[J]. 福建中医药, 2016, 47(5): 21-23.
- [35] 李斌, 冉小库, 孙云超, 等. 茯苓对脾虚水湿内停大鼠的健脾利尿药效物质研究[J]. 世界中医药, 2015, 10(12): 1859-1867.
- [36] 宋锐, 张云, 丛晓东, 等. 连钱草的化学成分及生物活性研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2010, 28(12): 2511-2515.
- [37] 段永强, 程卫东, 成映霞, 等. 基于脾虚证候要素的“脾虚证躯体泛化效应”证候模式内涵探讨[J]. 中国中医药信息杂志, 2013, 20(7): 3-5.
- [38] 贾甄伟, 赵宁, 张皖东, 等. 理中丸和四君子汤对利血平脾虚大鼠自主活动的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2006, 13(5): 34-35.
- [39] 张晓丹. 白术、茯苓与白术茯苓汤对脾虚泄泻动物模型胃肠形态及水液代谢的影响研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2012.
- [40] 薛晓倩, 黄学宽, 高宁, 等. 化湿液对湿阻证大鼠血清D-木糖及 Ghrelin 含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(12): 206-209.
- [41] 高洁, 韩冰冰, 韩旭, 等. 复合造模因素诱导脾虚水湿不化模型大鼠胃肠功能的改变[J]. 辽宁中医杂志, 2014, 41(9): 1999-2000.
- [42] 赵盛云, 姜巍, 王垂杰. 脾虚与胃黏膜屏障功能[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2012, 20(11): 523-525.
- [43] 吕银娟, 董德河, 周安方, 等. 胃泌素在脾虚证研究中的运用[J]. 河南中医, 2012, 32(7): 942-944.
- [44] 秦新裕, 雷勇. 胃肠肽类激素与胃肠动力[J]. 中国实用外科杂志, 2001, 21(6): 329-331.
- [45] 吴丽丽, 严灿. 中医脏腑功能与能量代谢和体温调节[J]. 甘肃中医学院学报, 2004, 21(1): 12-13.
- [46] 潘爱珍, 易伟民, 余晓娟, 等. 人参总皂苷对脾虚模型大鼠的保护作用研究[J]. 中国药房, 2013, 24(39): 3682-3684.
- [47] 谢慧君. 加味五苓散干预脾虚痰浊型血脂异常的临床观察[J]. 光明中医, 2013, 28(7): 1387-1389.
- [48] 岳晓莉. 基于 AVP-V2R-AQP2 通路研究当归芍药散治疗肾病综合征的作用及其机制[D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2015.
- [49] 郭昊, 李学军. 细胞膜上的水通道—2003年诺贝尔化学奖工作介绍[J]. 生理科学进展, 2007, 38(3): 283-289.
- [50] 张昕贤, 吴锋, 林日阳, 等. 从肺脾肾不同组织水通道蛋白变化研究中医“水液代谢理论”的实验基础[J]. 南方医科大学学报, 2012, 32(10): 1507-1510.
- [51] 陈芳, 张丰华, 张凯文, 等. 从湿阻中焦证探讨中医脾病及肾之病机[J]. 中国中医基础医学杂志, 2018, 24(7): 899-900, 937.
- [52] 刘光华, 曲长江. 外湿对造模脾虚小鼠免疫学影响的实验研究[J]. 辽宁中医杂志, 2003, 30(5): 421.
- [53] 喻松仁, 舒晴, 白洋, 等. 温胆汤对肥胖痰湿证免疫及炎症细胞因子表达的影响[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(2): 378-381.
- [54] 赵军艳, 姚树坤, 张瑞星. 清热燥湿中药在急性炎症中的运用[J]. 中国中医基础医学杂志, 2005, 11(11): 847.
- [55] 高洁. 基于复合因素的大鼠脾虚水湿不化模型的建立与评价[D]. 济南: 山东中医药大学, 2015.
- [56] 张潇文, 刘爱民, 赵晶晶, 等. 采用网络药理学和分子对接技术研究麻黄连翘赤小豆汤治疗湿疹的作用机制[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(4): 894-901.
- [57] 林卫东, 马文苑, 田元新, 等. 基于分子对接技术探讨葛根改善胰岛素抵抗的物质基础[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(6): 194-199.

[责任编辑 孙丛丛]