本文引用: 梁婷, 邓云方, 钟辉, 刘琴, 陈光宇, 李亮. 基于代谢组学探讨桃红方对高盐血瘀大鼠的改善作用[J]. 湖南中医药大学学报, 2026, 46(10): 1991-2007.

基于代谢组学探讨桃红方对高盐血瘀大鼠的改善作用

梁婷[1,2,3,4],邓云方[1,2,3,4],钟辉[1,2,3],刘琴[1,2,3,4],陈光宇[1,2,3,4],李亮[1,2,3,4]*

1.湖南中医药大学湖南省药食同源功能性食品工程技术研究中心,湖南 长沙 410208;2.湖南中医药大学中医心肺病证辨证与药膳食疗重点研究室,湖南 长沙 410208;3.湖南中医药大学中医诊断学湖南省重点实验室,湖南 长沙 410208;4.湖南中医药大学中医学院,湖南 长沙 410208

〔**摘要**〕**目的** 探究桃红方对高盐血瘀大鼠的改善作用及机制。**方法** 采用超高效液相色谱-四极杆-飞行时间串联质谱(UPLC-Q-TOF-MS/MS)鉴定桃红方化学成分。采用高盐饮食喂养法建立高盐血瘀模型,将36只雄性SD大鼠随机分为空白组、模型组、阿司匹林组及桃红方低、中、高剂量组,每组6只。造模周期为30 d,于造模第17天起同步给药,各给药组灌胃药物治疗14 d。观察大鼠舌质颜色、尾部及爪甲色泽等血瘀表征变化,血液流变学检测大鼠的全血黏度、血浆黏度及纤维蛋白原,HE染色观察冠状动脉组织病理变化;网络药理学预测桃红方活性成分及血瘀证相关靶点,构建蛋白质-蛋白质(PPI)网络,通过GO和KEGG富集分析,筛选桃红方改善血瘀证的重要信号通路;利用UPLC-Q-TOF-MS/MS进行血清代谢组学分析,筛选差异代谢物并富集关键代谢通路,构建"代谢物-靶点基因"调控网络;采用ELISA检测血清中白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)、血管细胞黏附分子-1(VCAM-1)、血栓调节蛋白(TM)、核因子κB亚基1(NF-κB1)、丝氨酸蛋白酶抑制剂家族E成员1(SERPINE1)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、表皮生长因子受体(EGFR)、一氧化氮(NO)、白蛋白(ALB)水平,免疫组化检测心脏及肾脏组织中花生四烯酸5-脂加氧酶(ALOX5)和核因子κB(NF-κB)蛋白表达水平。**结果** 桃红方经鉴定含有黄酮类、有机酸类等71种成分。与空白组比较,模型组大鼠出现舌质紫暗、皮下瘀血等血瘀症状,全血黏度(低、中、高切变率)、血浆黏度及纤维蛋白原水平均显著升高(P<0.001);冠状动脉内中膜增厚、管腔内径增大、内膜和外膜脱落、细胞排列紊乱及心肌细胞水肿;大鼠血清中IL-6、TNF-α、ICAM-1、VCAM-1、TM、NF-κB1、SERPINE1、MMP-9及EGFR水平均显著升高(P<0.001),NO水平升高(P<0.05),ALB水平显著降低(P<0.001);心脏及肾脏组织中ALOX5与NF-κB蛋白表达水平均显著升高(P<0.001)。与模型组比较,桃红方低、中、高剂量组及阿司匹林组大鼠的舌质色泽、尾部及爪甲瘀血症状均呈现不同程度的改善,全血黏度(低、中、高切变率)、血浆黏度和纤维蛋白原水平均显著降低(P<0.001);桃红方低、中、高剂量组及阿司匹林组IL-6、TNF-α、EGFR、MMP-9、NF-κB1、ICAM-1、VCAM-1、SERPINE1、TM水平均降低(P<0.05,P<0.01,P<0.001),桃红方低、高剂量组ALB水平升高(P<0.001),阿司匹林组ALB、NO水平降低(P<0.05,P<0.01);心脏及肾脏组织中,桃红方低、中、高剂量组及阿司匹林组的ALOX5和NF-κB蛋白表达水平均显著降低(P<0.01,P<0.001)。与桃红方低剂量组比较,桃红方中、高剂量组的全血黏度(低、中、高切变率)、血浆黏度和纤维蛋白原水平均降低(P<0.05);桃红方中、高剂量组、阿司匹林组IL-6、TNF-α、EGFR、NF-κB1、ICAM-1、SERPINE1水平均显著降低(P<0.05,P<0.01,P<0.001),阿司匹林组MMP-9水平升高(P<0.05),桃红方中剂量组、阿司匹林组ALB水平显著降低(P<0.001),桃红方高剂量组、阿司匹林组VCAM-1、TM水平显著降低(P<0.01,P<0.001),阿司匹林组NO水平显著降低(P<0.001)。心脏及肾脏组织中,桃红方中、高剂量组及阿司匹林组ALOX5和NF-κB蛋白表达水平均显著降低(P<0.01,P<0.001)。与桃红方中剂量组比较,桃红方高剂量组、阿司匹林组IL-6、TNF-α、EGFR、NF-κB1、ICAM-1、VCAM-1、SERPINE1水平均降低(P<0.05,P<0.01,P<0.001),桃红方高剂量组ALB水平显著升高(P<0.001),桃红方高剂量组MMP-9水平显著降低(P<0.05),中剂量组MMP-9水平显著升高(P<0.001),阿司匹林组TM、NO水平均显著降低(P<0.01,P<0.001)。心脏及肾脏组织中,桃红方高剂量组及阿司匹林组ALOX5和NF-κB蛋白表达水平均降低(P<0.05,P<0.01,P<0.001)。与桃红方高剂量组比较,阿司匹林组IL-6、TNF-α、ALB、ICAM-1、VCAM-1、TM、NO水平均降低(P<0.05,P<0.01,P<0.001),MMP-9水平显著升高(P<0.001)。心脏组织中阿司匹林组ALOX5蛋白表达水平均显著降低(P<0.05),肾脏组织中阿司匹林组NF-κB蛋白表达水平均显著降低(P<0.01)。网络药理学筛选出桃红方与血瘀证的178个共同靶点,富集于脂质与动脉粥样硬化、磷脂酰

〔**收稿日期**〕2026-07-06

〔**基金项目**〕国家自然科学基金项目(8237432);湖南省自然科学基金高校联合基金项目(2026JJ30079);湖南中医药大学交叉学科方向培育项目(2025JC0201)。

〔**通信作者**〕* 李亮,男,博士,教授,博士研究生导师,E-mail:superliliang@126.com。

肌醇 3-激酶(PI3K)-蛋白激酶 B(Akt)等信号通路;代谢组学鉴定出 24 个差异代谢物,与空白组比较,模型组二十碳五烯酸(EPA)及其下游代谢产物 5-羟基二十碳五烯酸(5-HEPE)、12-羟基二十碳五烯酸(12-HEPE)、15-羟基二十碳五烯酸(15-HEPE)、5-氧代二十碳四烯酸(5-KETE)等水平降低($P<0.05$);与模型组比较,桃红方高剂量组干预后 23 个代谢物水平升高($P<0.05$)。**结论** 桃红方可改善高盐血瘀证大鼠的血液流变学异常和血管损伤;其机制可能与调控 ALOX5 介导的多不饱和脂肪酸代谢、抑制 NF-κB 炎症信号及恢复纤溶平衡相关。

〔**关键词**〕 血瘀证;桃红方;代谢组学;网络药理学;花生四烯酸 5-脂加氧酶;多不饱和脂肪酸

〔**中图分类号**〕R285.5 〔**文献标志码**〕A 〔**文章编号**〕doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2026.10.004

Metabolomics-based study on the ameliorative effects of Taohong Formula on rats with high-salt diet-induced blood stasis

LIANG Ting[1,2,3,4], *DENG Yunfang*[1,2,3,4], *ZHONG Hui*[1,2,3], *LIU Qin*[1,2,3,4], *CHEN Guangyu*[1,2,3,4], *LI Liang*[1,2,3,4]*

1. Hunan Engineering Technology Research Center for Medicinal and Functional Food, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. Key Laboratory of TCM Heart and Lung Pattern Identification & Medicated Diet and Dietotherapy, Changsha, Hunan 410208, China; 3. Hunan Provincial Key Laboratory of TCM Diagnostics, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 4. School of Traditional Chinese Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China

〔**Abstract**〕 **Objective** To investigate the ameliorative effects and underlying mechanisms of Taohong Formula on rats with high-salt diet-induced blood stasis. **Methods** Ultra-high-performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS/MS) was used to identify the chemical constituents of Taohong Formula. A total of 36 male SD rats were randomly divided into blank group, model group, low-, medium-, and high-dose Taohong Formula groups, and aspirin group, with 6 rats in each group. A blood stasis model was established by feeding the rats a high-salt diet. The modeling period lasted 30 days, and drug administration began on the 17th day of modeling. Each treatment group received the corresponding drug by gavage for 14 days. Blood stasis manifestations, including tongue color, tail color, and claw color, were observed. Whole blood viscosity, plasma viscosity, and fibrinogen levels were measured by hemorheological testing, and histopathological changes in the coronary arteries were examined by HE staining. Network pharmacology was used to predict the active ingredients of Taohong Formula and targets associated with blood stasis pattern, and a protein-protein interaction (PPI) network was constructed. Key signaling pathways involved in the ameliorative effects of Taohong Formula on blood stasis pattern were identified by GO and KEGG enrichment analyses. Serum metabolomics analysis was performed using UPLC-Q-TOF-MS/MS to identify differential metabolites and enrich key metabolic pathways. A "metabolite-target gene" regulatory network was then constructed. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to measure serum levels of interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor-α (TNF-α), intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1), thrombomodulin (TM), nuclear factor κB subunit 1 (NF-κB1), serine protease inhibitor family E member 1 (SERPINE1), matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), epidermal growth factor receptor (EGFR), nitric oxide (NO), and albumin (ALB). Immunohistochemistry was used to detect the protein expression levels of arachidonate 5-lipoxygenase (ALOX5) and nuclear factor κB (NF-κB) in cardiac and renal tissues. **Results** Taohong Formula was identified as containing 71 constituents, including flavonoids and organic acids. Compared with the blank group, rats in the model group exhibited blood stasis manifestations, including a dark purple tongue and subcutaneous ecchymosis. Whole blood viscosity (at low, medium, and high shear rates), plasma viscosity, and fibrinogen levels were significantly increased ($P<0.001$). Histopathological examination revealed thickening of the intima and media of the coronary arteries, an increase in the luminal diameter, detachment of the intima and adventitia, disorganized cellular arrangement, and edema of myocardial fibroblasts. Serum levels of IL-6, TNF-α, ICAM-1, VCAM-1, TM, NF-κB1, SERPINE1, MMP-9, and EGFR were significantly increased ($P<0.001$), NO levels were increased ($P<0.05$), and ALB levels were significantly decreased ($P<0.001$). The protein expression levels of ALOX5 and NF-κB in cardiac and renal tissues were significantly increased ($P<0.001$). Compared with the model group, rats in the low-, medium-, and high-dose Taohong Formula groups and the aspirin group all exhibited varying degrees of improvement in tongue color and in blood stasis manifestations of the tail and claws. Whole blood viscosity (at low, medium, and high shear rates), plasma viscosity, and fibrinogen levels were significantly decreased ($P<0.001$). Serum levels of IL-6, TNF-α, EGFR, MMP-9, NF-κB1, ICAM-1, VCAM-1,

SERPINE1, and TM were significantly decreased in all four treatment groups (P<0.05, P<0.01, or P<0.001). ALB levels were increased in the low- and high-dose Taohong Formula groups (P<0.001), whereas ALB and NO levels were decreased in the aspirin group (P<0.05 and P<0.01, respectively). The protein expression levels of ALOX5 and NF-κB in cardiac and renal tissues were significantly decreased in all four treatment groups (P<0.01 or P<0.001). Compared with the low-dose Taohong Formula group, whole blood viscosity (at low, medium, and high shear rates), plasma viscosity, and fibrinogen levels were significantly decreased in the medium- and high-dose Taohong Formula groups (P<0.05). Serum levels of IL-6, TNF-α, EGFR, NF-κB1, ICAM-1, and SERPINE1 were significantly decreased in the medium- and high-dose Taohong Formula groups and the aspirin group (P<0.05, P<0.01, or P<0.001). MMP-9 levels were significantly increased in the aspirin group (P<0.05), whereas ALB levels were significantly decreased in the medium-dose Taohong Formula group and the aspirin group (P<0.001). VCAM-1 and TM levels were significantly decreased in the high-dose Taohong Formula group and the aspirin group (P<0.01 or P<0.001), and NO levels were significantly decreased in the aspirin group (P<0.001). The protein expression levels of ALOX5 and NF-κB in cardiac and renal tissues were significantly decreased in the medium- and high-dose Taohong Formula groups and the aspirin group (P<0.01 or P<0.001). Compared with the medium-dose Taohong Formula group, serum levels of IL-6, TNF-α, EGFR, NF-κB1, ICAM-1, VCAM-1, and SERPINE1 were significantly decreased in the high-dose Taohong Formula group and the aspirin group (P<0.05, P<0.01, or P<0.001). ALB levels were significantly increased in the high-dose Taohong Formula group (P<0.001), whereas MMP-9 levels were significantly decreased in this group (P<0.05). TM and NO levels were significantly decreased in the aspirin group (P<0.01 and P<0.001, respectively). The protein expression levels of ALOX5 and NF-κB in cardiac and renal tissues were significantly decreased in the high-dose Taohong Formula group and the aspirin group (P<0.05, P<0.01, or P<0.001). Compared with the high-dose Taohong Formula group, serum levels of IL-6, TNF-α, ALB, ICAM-1, VCAM-1, TM, and NO were significantly decreased in the aspirin group (P<0.05, P<0.01, or P<0.001), whereas MMP-9 levels were significantly increased (P<0.001). ALOX5 protein expression in cardiac tissue was significantly decreased in the aspirin group (P<0.05), and NF-κB protein expression in renal tissue was significantly decreased (P<0.01). Network pharmacology identified 178 common targets of Taohong Formula and blood stasis pattern, which were enriched in signaling pathways including lipid and atherosclerosis and the phosphoinositide 3-kinase (PI3K)-protein kinase B (Akt) pathway. Metabolomics identified 24 differential metabolites. Compared with the blank group, the levels of eicosapentaenoic acid (EPA) and its downstream metabolites, including 5-hydroxyeicosapentaenoic acid (5-HEPE), 12-hydroxyeicosapentaenoic acid (12-HEPE), 15-hydroxyeicosapentaenoic acid (15-HEPE), and 5-oxoeicosatetraenoic acid (5-KETE), were significantly decreased in the model group (P<0.05). Compared with the model group, the levels of 23 metabolites were significantly increased in the high-dose Taohong Formula group after intervention (P<0.05). **Conclusion** Taohong Formula can ameliorate hemorheological abnormalities and vascular injury in rats with high-salt diet-induced blood stasis pattern. The underlying mechanism may involve regulating ALOX5-mediated polyunsaturated fatty acid metabolism, inhibiting NF-κB inflammatory signaling, and restoring fibrinolytic balance.

〔**Keywords**〕 blood stasis pattern; Taohong Formula; metabolomics; network pharmacology; arachidonate 5-lipoxygenase; poly-unsaturated fatty acids

血瘀证以瘀血内阻、血行不畅为核心病机，以舌质紫暗、脉弦涩为临床表现。现代医学认为，中医血瘀证与血栓、微循环障碍及慢性炎症等病理过程密切相关，其病理特征与血液高凝状态具有高度相似性，该证候常见于冠心病、中风、高血压、高脂血症、糖尿病、银屑病及类风湿性关节炎等多种慢性疾病中[1-4]。研究表明，多不饱和脂肪酸来源的氧化脂质如血栓素、前列腺素、白三烯等，可通过调控血小板聚集、血管舒缩和炎症反应，参与血栓形成与微循环障碍[5]。其中，花生四烯酸 5-脂加氧酶(arachidonate 5-lipoxygenase, ALOX5)通路代谢产物(如白三烯)具有强效促炎和促血栓形成作用，而二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid, EPA)来源的代谢产物[如羟基二十碳五烯酸类(hydroxyeicosapentaenoic acids, HEPEs)]则发挥抗炎、抗血小板聚集的保护效应[5]。因此，多不饱和脂肪酸代谢失衡可能是血瘀证的重要病理基础之一。长期高盐摄入是现代饮食文化中的常见现象，易致血液流变学改变、微循环障碍及内皮功能损伤[6]。《素问·五藏生成篇》载："多食咸则脉凝泣而变色。"高盐饮食会诱导血管内皮损伤、刺激免疫系统、加重炎症反应[6]。炎症反应会导致内皮细胞功能异常，表现为血管收缩增强和血栓形成[7]。采用活血化瘀的药食同源方剂，通过长期、温和的调理方式改善体质，可为血瘀相关疾病的早期提供干预策略。已有研究表明，藏红花可抗凝并抑制血小板活化[8]；桃仁能抑制二磷酸腺苷诱导的血小板聚集及凝血酶活性[9]；当归通过保护血管内皮、调节炎症反应等发挥活血作用，其主要成分阿魏酸可抗血小板聚集[10-11]；山楂通过减少分泌型磷脂酶 A2ⅡA 分泌，抑制巨噬细胞炎症因子释放，降低动脉粥样硬化风险[12]；陈皮可抑制环状 RNA RASA2 表达，调控下游信号通路，减轻炎症反应[13]。基于此，本研究以桃

仁、藏红花、当归、山楂、陈皮、甘草 6 味药食同源中药组成桃红方。该方以桃仁、藏红花共为君药，活血祛瘀、通经消癥；当归为臣药，补血活血，使瘀去而不伤新血；山楂、陈皮共为佐药，前者消食降脂以助化瘀，后者理气健脾以助运化，且防滋补滞气；甘草为使药，调和诸药。全方活血与理气并行，祛瘀与养血兼顾，活血而不伤正。本研究基于代谢组学从分子层面分析高盐血瘀大鼠经桃红方干预后血清代谢物的变化，结合网络药理学筛选关键靶点，构建“代谢物-靶点基因”调控网络，探讨桃红方改善血瘀证的潜在机制。

1 材料

1.1 实验动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 36 只，体质量(200±20) g，购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司，许可证号：SCXK(湘)2021-0002，实验动物质量合格证号：430727241103469846。饲养于湖南中医药大学实验动物中心动物房，饲养温度 22~26 ℃，相对湿度 50%~60%，12 h 交替照明，自由摄食、饮水。本实验通过湖南中医药大学实验动物伦理委员会批准，伦理批准编号：HNUCM21-2409-21。

1.2 主要药物与试剂

桃红方组成：桃仁 10 g(四川，批号：240600631)、当归 10 g(甘肃定西，批号：24071761)、山楂 10 g(山东，批号：240602651)、陈皮 10 g(浙江，批号：240603881)、甘草 5 g(内蒙古，批号：240100501)购于康美药业股份有限公司；藏红花 1 g(批号：20240601，伊朗)购于博野县和宁生物科技有限公司。阿司匹林肠溶片(石药集团欧意药业有限公司，批号：018230658)；氯化钠、无水乙醇、二甲苯、中性树胶(国药集团化学试剂有限公司，批号：20240827、100092683、10023418、10004160)。色谱纯乙腈、甲醇(瑞典Oceanpak公司，批号：18100306LM01、17111204LM01)；HE 染色试剂盒(北京索莱宝科技有限公司，货号：G1120)；大鼠细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)/CD54、血管细胞黏附分子-1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)/CD106、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-alpha, TNF-α)、血栓调节蛋白(thrombomodulin, TM)、表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、核因子κB亚基1(nuclear factor kappa-B subunit 1, NF-κB1)、基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)、丝氨酸蛋白酶抑制剂家族 E 成员 1(serpin family E member 1, SERPINE1)ELISA 试剂盒(江苏酶免实业有限公司，货号：MM-0199R2、MM-0174R2、MM-0190R2、MM-0180R2、MM-0075R2、MM-20374R2、MM-71309R2、MM-20918R2、MM-70937R2)；一氧化氮(nitric oxide, NO)含量检测试剂盒(江苏艾迪生生物科技有限公司，货号：ADS20250106)；乙二胺四乙酸(ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA)抗原修复液、磷酸盐缓冲液(phosphate-buffered saline, PBS)、牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)、环保型脱蜡液(武汉赛维尔生物科技有限公司，货号：G1206、G0002、G5001、G1128)；兔抗 ALOX5 单克隆抗体、兔抗核因子 κB p65(nuclear factor kappa-B p65, NF-κB p65)单克隆抗体(武汉爱博泰克生物科技有限公司，货号：A2877、A19653)；辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记山羊抗兔IgG、二氨基联苯胺(3,3′-diaminobenzidine, DAB)显色试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司，货号：A0208、P0202)。

1.3 主要仪器

超纯水机(湖南中沃水务环保科技有限公司，型号：ZWL-PAI-10)；电子天平(日本岛津仪器有限公司，型号：ATX124)；超声波清洗器(昆山美美超声仪器有限公司，型号：KM5200DE)；高速冷冻离心机(长沙英泰仪器有限公司，型号：TGL18W)；全自动血液流变仪(淄博恒拓分析仪器有限公司，型号：HT-100B)；四极杆-飞行时间质谱仪(美国 ABSCIEXDISTRIBUTION 公司，型号：X500R 型)；Ultimate UHPLC XB-C18 色谱柱[月旭科技(上海)公司，2.1 mm×100 mm，1.8 μm]；Luna Omega C18 色谱柱(美国飞诺美公司，2.1 mm×100 mm，1.6 μm)；酶标仪[帝肯(上海)实验器材有限公司，型号：Infinite F50]；自动酶标洗板机(无锡华卫德朗仪器有限公司，型号：DKW-310)；脱水机、染色机(意大利 DIAPATH 公司，型号：Donatello、Giotto)；包埋机、冻台(武汉俊杰电子有限公司，型号：JB-P5、JB-L5)；病理切片机(德国徕卡仪器有限公司，型号：RM2016)；组织摊片机(浙江金华市科迪仪器设备有限公司，型号：KD-P)；烤箱(上海慧泰仪器制造有限公司，型号：DHG-9140A)；微波炉(格兰仕微波炉电器有限公司，型号：P70F23P-G5)；脱色摇床、掌上离心机[大龙兴创实验仪器(北京)股份公司，型号：SK-O180-E、D1008]；正置光学显微镜及成像系统(日本尼康株式会社，型号：Eclipse E100)；载玻片(武汉赛维尔生物科技有限公司，货号：G6004)；盖玻片(江苏世泰实验器材有限公司，货号：80340-0630)；涡

旋混合器(美国赛默飞世尔科技公司,型号:88882002);移液器(德国 Eppendorf 公司,型号:3123000)。

2 方法

2.1 桃红方的制备和超高效液相色谱-四极杆-飞行时间串联质谱(ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry, UPLC-Q-TOF-MS/MS)样品制备

2.1.1 桃红方的制备　将藏红花加入 10 倍量蒸馏水,武火煮沸 2 min 后,转为文火持续煎煮 20 min,滤出药液,保留药渣加入等量蒸馏水,按相同方法再次煎煮,合并两次煎煮滤液备用;将处方中其余 5 味药材加入 10 倍量蒸馏水,武火煮沸 2 min 后,调节火候至文火持续煎煮 50 min,重复煎煮 2 次,合并两次滤液。将两份滤液混合匀,过滤除去残渣,于真空度 0.03 MPa、温度 50 ℃条件下减压浓缩至原生药浓度 1 g/mL。将所得浓缩液均匀分装于冻干托盘,制备冻干粉,具体冻干参数:预冻温度-40 ℃、预冻时间 1 h,真空度 10 Pa,升华干燥温度-50 ℃、干燥时间 72 h。冻干完成后收集粉末,密封避光包装,置于阴凉干燥处保存。精密称取桃红方冻干粉,以纯水为溶剂,分别配制成浓度为 0.207、0.414、0.828 g/mL 的低、中、高剂量药液,充分涡旋混匀后,分装于无菌管中,置于 4 ℃条件下保存备用。

2.1.2 UPLC-Q-TOF-MS/MS 样品制备　取桃红方浓缩液,按 1:9 比例加入甲醇,涡旋混匀后,于 27 ℃条件下超声处理 10 min,静置 5 min,取上清液,经 0.22 μm 聚四氟乙烯滤膜过滤,滤液转移至 2 mL 进样小瓶中,即得供试品溶液。

2.2 色谱条件

2.2.1 桃红方 UPLC-Q-TOF-MS/MS 化学成分检测的色谱条件　采用 Ultimate UHPLC XB-C18 色谱柱进行色谱分离。以乙腈为流动相 A,0.1%甲酸水溶液为流动相 B,柱温 35 ℃,流速 0.3 mL/min,进样量 10 μL。梯度洗脱程序:0~10 min,10% A;10~40 min,10%~100% A;40~45 min,100% A;45~47.5 min,100%~10% A;47.5~60 min,10% A。

2.2.2 血清代谢组学分析的色谱条件　采用 Luna Omega C18 色谱柱进行色谱分离。以 100%甲醇为流动相 A 和含 0.1%甲酸的超纯水为流动相 B,流速 0.30 mL/min,进样量 10 μL,柱温 35 ℃。采用两步梯度洗脱程序:0~5 min,5% A;5~20 min,5%~100% A;20~24 min,100% A;24~25 min,100%~5% A;25~30 min,5% A。

2.3 质谱条件

2.3.1 桃红方 UPLC-Q-TOF-MS/MS 化学成分检测的质谱条件　采用电喷雾离子源,正、负离子模式扫描,设置参数如下:质量扫描范围 m/z 100~1 000,喷雾电压+5 500 V(正离子模式)和-4 500 V(负离子模式),雾化气温度 550 ℃,气帘气 35 psi,辅助气、雾化气均为 50 psi,碰撞能量为(35±15) eV。TOF/MS 一级预扫描离子累积时间 100 ms,TOF/MS/MS 二级扫描离子累积时间 1 150 ms,设置动态背景扣除。保留一级质谱中实测质量数与理论值偏差≤10 ppm 的离子峰,同时以二级质谱、保留时间与数据库物质匹配得分≥0.7 为条件筛选桃红方样品中的化学成分。

2.3.2 血清代谢组学分析的质谱条件　采用超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱 (ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry, UPLC-Q-TOF-MS)进行分析。采用电喷雾离子源,正、负离子模式扫描;质量扫描范围 m/z 100~1 000;喷雾电压+5 500 V(正离子模式)和-4 500 V(负离子模式);雾化气温度 550 ℃;气帘气 35 psi;辅助气、雾化气均为 50 psi;采用碰撞诱导解离获得 MS/MS 碎片,碰撞能量为(35±15) eV。

2.4 实验动物造模、分组与给药

36 只 SPF 级 SD 大鼠适应性饲养 1 周后,随机分为空白组、模型组、桃红方低、中、高剂量组及阿司匹林组,每组 6 只。桃红方低、中、高剂量组及阿司匹林组采用高盐饮食喂养法建立高盐血瘀模型[14],每日上午按 1.2 g/kg 剂量灌胃 12% NaCl 溶液,空白组灌胃等体积蒸馏水,连续 30 d。自造模第 17 d起,每日下午灌胃给药:桃红方低、中、高剂量组分别灌胃2.07、4.14、8.28 g/kg 桃红方;阿司匹林组灌胃 10.575 mg/kg 阿司匹林[15];模型组与空白组灌胃等体积生理盐水,给药持续 14 d。造模成功标准:大鼠舌色紫暗、有瘀斑瘀点,尾尖及爪甲颜色紫暗等血瘀症状,且血液流变学指标较空白组显著升高[14]。

2.5 大鼠一般状态观察

实验过程中定期观察并记录大鼠爪甲、舌色、尾尖等表征变化。

2.6 样本采集与处理

末次给药前 24 h,所有大鼠禁食不禁水。腹腔注射戊巴比妥钠(30 mg/kg)麻醉大鼠,经腹主动脉采血,分别使用肝素钠抗凝采血管和普通采血管采集血液:普通采血管采集的血液室温静置 1 h 后,4 ℃条件下 3 000 r/min、半径 15 cm 离心 10 min,分离血清,分装后于-80 ℃保存,用于 ELISA 检测及代谢组学分析;肝素钠抗凝采血管采集的全血用于血

液流变学检测。取血后，剥离心脏、肾脏组织，于生理盐水中漂洗除血，用 4%多聚甲醛固定。

2.7 大鼠血液流变学检测

肝素钠抗凝全血于采血后 2 h 内完成全血黏度检测；检测完毕后，将抗凝全血于 4 ℃条件下 3 000 r/min、半径 6 cm 离心 10 min，分离得到血浆，检测血浆黏度。

2.8 冠状动脉 HE 染色观察

将固定的心脏组织经梯度乙醇脱水、二甲苯透明、石蜡包埋后，制作冠状动脉切片。切片依次经苏木素染液染 3~5 min，水洗返蓝，置于伊红染液中染色 5 min，梯度乙醇脱水、二甲苯透明，中性树胶封片，光镜下观察冠状动脉组织病理变化并采集图像。

2.9 网络药理学分析

2.9.1 网络药理学相关软件和数据库 PubChem 数据库(https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/)、Swiss ADME 平台(http://www.swissadme.ch/)、SwissTargetPrediction 数据库(http://www.swisstargetprediction.ch/)、GeneCards 数据库(https://www.genecards.org/)、OMIM 数据库(https://www.omim.org/)、DrugBank 数据库(https://go.drugbank.com/)、TTD 数据库(http://db.idrblab.net/ttd)、UniProt 数据库(https://sparql.uniprot.org)、Venny 2.1 在线工具(https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html)、STRING 数据库(https://cn.string-db.org/)、Cytoscape 3.10.3 软件(https://cytoscape.org/)、DAVID 数据库(https://david.ncifcrf.gov/)、人类代谢组数据库(HMDB，https://hmdb.ca/)、京都基因与基因组百科全书(KEGG，https://www.kegg.jp/)。

2.9.2 桃红方活性成分与作用靶点筛选 利用 PubChem 数据库查找成分 Canonical SMILES，借助 Swiss ADME 平台进行筛选，以口服生物利用度≥30%、类药性≥0.18 为标准，结合 Swiss ADME 平台筛选胃肠道吸收为“high”且类药性至少通过2 个“Yes”的活性成分，将符合条件的成分导入 SwissTargetPrediction 数据库预测潜在靶点，Swiss ADME 未收录的成分亦以 SwissTargetPrediction 补充预测；所有靶点经 UniProt 数据库标准化为基因名。

2.9.3 血瘀证相关靶点获取与筛选 以“Thrombosis”为关键词在 GeneCards 数据库、OMIM 数据库、DrugBank 数据库、TTD 数据库中检索，获取与“Thrombosis”相关的靶点信息。整合所有靶点，并在 UniProt 数据库进行标准化处理。将 4 个数据库所得结果合并去除重复项后即得到“Thrombosis”的靶点。将疾病靶点与成分靶点导入 Venny 2.1 中获取两者的交集，即可初步获取潜在作用靶点。

2.9.4 蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络的构建 将成分靶点和疾病靶点导入 Venny 2.1 绘制韦恩图，获得交集基因。将交集基因导入 STRING 数据库构建 PPI 网络，设置物种为“Homo sapiens”、最低相互作用置信度>0.700，并用 Cytoscape 3.10.3 软件可视化。

2.9.5 GO 与KEGG 富集分析 将核心靶点导入DAVID 数据库进行 GO 功能富集分析及 KEGG 信号通路分析，获得结果以 Count 值降序排列，分别取生物过程(biological process, BP)、细胞成分(cellular component, CC)、分子功能(molecular function, MF)的前 10 位绘制 GO 功能富集柱状图，以 KEGG 信号通路富集结果前 10 位绘制 KEGG 通路气泡图。

2.10 血清代谢组学分析

2.10.1 血清样本前处理 精密吸取各血液样品 300 μL，置于 2 mL 离心管中，加入 900 μL 乙腈，涡旋振荡 2 min，充分混匀后，于 4 ℃条件下以 3 000 r/min、半径 8 cm 离心 30 min。取上清液，经 0.22 μm 有机微孔滤膜过滤，滤液转移至进样小瓶中，即得供试品溶液。

2.10.2 代谢组学数据处理 使用SCIEX OS 软件对原始质谱数据进行峰提取、峰匹配、峰对齐和识别等处理。通过 MetaboAnalyst 6.0 在线分析平台进行多元统计分析，主要采用主成分分析(principal component analysis, PCA)和正交偏最小二乘法判别分析(orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA)进行组间变量分析，根据变量全重投影值(variable importance in projection, VIP)和差异倍数(fold change, FC)确定组间的差异代谢物。利用人类代谢组数据库(human metabolome database, HMDB)和 KEGG 数据库对差异代谢物进行注释和通路分析，筛选条件设置为质量误差<10 ppm。

2.11 网络药理学与代谢组学整合分析及关键靶点验证

2.11.1 “代谢物-靶点基因”网络构建 将筛选得到的 24 个差异代谢物与网络药理学得到桃红方与血瘀证 178 个关键靶点导入 MetaboAnalyst 6.0 进行分析，构建“代谢物-靶点基因”网络。

2.11.2 ELISA检测 本研究采用 ELISA 检测大鼠血清中 IL-6、ICAM-1、VCAM-1、TM、TNF-α、NO、ALB、EGFR、MMP-9、NF-κB1、SERPINE1 水平，严格按照试剂盒说明书操作。

2.11.3 免疫组化检测组织蛋白表达水平 取各组大鼠心脏及肾脏组织，经 4%多聚甲醛固定后，进行石蜡包埋、切片。采用免疫组化染色法检测组织中

ALOX5 和 NF-κB 的蛋白表达水平。切片经脱蜡至水、EDTA 缓冲液微波抗原修复、3%过氧化氢溶液阻断内源性过氧化物酶后，滴加一抗于 4 ℃孵育过夜；次日滴加 HRP 标记的二抗，室温孵育 50 min；DAB 显色，苏木素复染，脱水透明后中性树胶封片。于光学显微镜下观察并采集图像，采用组织化学评分(Histochemistry score, H-score)法对免疫组化染色结果进行半定量分析，计算公式：H-score=∑(pi×i)。其中，i 表示染色强度(0=阴性无着色，1=弱阳性淡黄色，2=中度阳性棕黄色，3=强阳性棕褐色)，pi 表示对应强度等级的阳性细胞百分比。H-score 取值范围为 0~300，数值越大，表明蛋白表达水平越高。

2.12　统计学分析

采用 SPSS 26.0 统计软件进行数据分析，计量资料以“$\bar{x}\pm s$”表示。数据符合正态分布和方差齐性时，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用最小显著差异 t 检验。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。统计图采用 GraphPad Prism 8 绘制。

3　结果

3.1　桃红方化学成分的 UPLC-Q-TOF-MS/MS 鉴定

采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术对桃红方化学成分进行鉴定，共得到 71 种成分，其中主要化学成分包括黄酮类、有机酸类、苷类及内酯类化合物。详见表 1。

3.2　大鼠一般状态观察

空白组大鼠精神状态良好，饮食正常，活动正常，毛色白净且有光泽。模型组大鼠出现明显的舌质紫暗伴瘀斑，尾部及爪甲可见皮下瘀血等血瘀证候。与模型组比较，桃红方低、中、高剂量组及阿司匹林组大鼠的舌质色泽、尾部及爪甲瘀血症状均呈现不同程度的改善。

3.3　桃红方对血液流变学指标的影响

与空白组比较，模型组大鼠的全血黏度(低、中、高切变率)、血浆黏度及纤维蛋白原水平均显著升高($P<0.001$)。与模型组比较，桃红方低、中、高剂量组及阿司匹林组大鼠的全血黏度(低、中、高切变率)、血浆黏度和纤维蛋白原水平均显著降低($P<0.001$)。与桃红方低剂量组比较，桃红方中、高剂量组的全血黏度(低、中、高切变率)、血浆黏度和纤维蛋白原水平均显著降低($P<0.05$)。详见图 1。

3.4　桃红方对冠状动脉病理损伤的影响

空白组大鼠冠状动脉结构正常，内膜和外膜完整，细胞排列整齐，心肌纤维细胞未见水肿；模型组大鼠动脉内中膜厚度显著增厚，管腔内径明显狭窄，内膜和外膜均呈现大面积脱落现象，细胞排列紊乱，心肌纤维细胞出现大量水肿；桃红方低剂量组大鼠动脉内中膜厚度明显增厚，管腔内径增大，内膜和外膜出现局部脱落，细胞排列较为紊乱，心肌纤维细胞呈现明显水肿；桃红方中剂量组大鼠动脉内中膜厚度有所增厚，管腔内径增大，内膜和外膜可见少量脱落，细胞排列呈轻度紊乱，心肌纤维细胞出现轻度水肿；桃红方高剂量组大鼠动脉内中膜厚度仅轻微增厚，内膜和外膜脱落程度轻微，细胞排列轻度紊乱，心肌纤维细胞水肿不明显；阿司匹林组大鼠动脉内中膜厚度增厚，管腔内径增大，内膜和外膜可见少量脱落，心肌纤维细胞呈现轻度水肿。详见图 2。

3.5　桃红方治疗血瘀证的网络药理学分析

3.5.1　桃红方活性成分靶点与血瘀证疾病靶点的交集　对 71 个桃红方化学成分进行活性筛选，共获得活性成分 56 个，预测潜在作用靶点 791 个。通过数据库检索获得血瘀证(血栓形成)相关靶点 1 062个。将两者取交集，获得 178 个共同靶点(图 3A)，作为桃红方治疗血瘀证的潜在作用靶点。

3.5.2　PPI 网络与核心靶点筛选　将桃红方靶点与血瘀证靶点相映射得到 178 个重叠靶点(图 3B)。基于 STRING 数据库构建 PPI，在 Cytoscape 3.10.3 中进行可视化分析，得到 177 个节点，3 530 条边的PPI 网络图。运用 Cytoscape 3.10.3 软件的“CentiScaPe 2.2”插件对其进行计算，得到度值排名前 20 的潜在靶点，分别为：IL6、TNF、ALB、AKT1、GAPDH、EGFR、STAT3、MMP9、NFκB1、SRC、CASP3、PTGS2、CTNNB1、ESR1、TLR4、PPARG、ICAM1、IGF1、IL2、KDR。

3.5.3　GO 与 KEGG 富集分析　GO 富集分析共获得显著富集的条目 1 059 个(图 4A)，包括 BP 773个、CC 85 个、MF 201 个，涉及信号传递、细胞增殖与迁移、凋亡调控、基因表达调控等生物过程，以及调控蛋白质结合、激酶活性等分子功能。KEGG 通路富集分析显示，桃红方主要调控脂质与动脉粥样硬化、PI3K-Akt 信号通路、AGE-RAGE 信号通路等 167条通路。其中，脂质与动脉粥样硬化通路与代谢组学富集的多不饱和脂肪酸代谢通路高度契合，进一步表明桃红方通过调控脂质代谢发挥改善血瘀证作用。详见图 4B。

3.6　桃红方对高盐血瘀大鼠血清代谢组学的影响

3.6.1　PCA 分析　对桃红方低、中、高剂量组及阿司匹林组大鼠血清代谢组数据进行 PCA 分析，从 2D 角度观察数据统计结果，4 组均呈现不同的分离趋势，详见图 5。从得分图中可以看出，各组在正、负离子模式下均呈现明显的分离趋势。

表 1 桃红方化学成分鉴定的 UPLC-Q-TOF-MS/MS 结果

Table 1 Identification of chemical constituents in Taohong Formula by UPLC-Q-TOF-MS/MS

No.	化合物	Adduct/Charge	CAS	分子式	保留时间/min	二级碎片
1	山梨糖醇	$[M-H]^-$	50-70-4	$C_6H_{14}O_6$	0.93	59.013 8,73.029 7,89.024 6,113.024 2,163.061 4,181.074 1
2	D-甘露糖	$[M-H]^-$	3458-28-4	$C_6H_{12}O_6$	0.95	59.013 8,89.024 2
3	奎宁酸	$[M-H]^-$	77-95-2	$C_7H_{12}O_6$	1.15	59.013 9,85.029 1,191.055 6
4	L-苹果酸	$[M-H]^-$	97-67-6	$C_4H_6O_5$	1.33	71.013 3,72.992 8,115.003 3
5	腺苷	$[M+H]^+$	58-61-7	$C_{10}H_{13}N_5O_4$	1.62	136.061 0
6	异亮氨酸	$[M+H]^+$	73-32-5	$C_6H_{13}NO_2$	1.65	57.057 6,69.069 6,86.096 4
7	柠檬酸	$[M-H]^-$	77-92-9	$C_6H_8O_7$	1.91	67.018 8,87.008 2,111.008 1
8	石斛碱	$[M+H]^+$	2115-91-5	$C_{16}H_{25}NO_2$	2.10	86.031 2,98.982 8,149.107 3,190.145 1,217.171 4,262.191 5
9	5-羟甲基糠醛	$[M+H]^+$	67-47-0	$C_6H_6O_3$	3.32	53.001 1,71.049 1,81.033 5,97.027 6,109.028 3,127.039 0
10	原儿茶醛	$[M-H]^-$	139-85-5	$C_7H_6O_3$	4.00	65.003 1,79.956 7,92.031 4,108.022 5,137.023 2
11	儿茶素	$[M+H]^+$	154-23-4	$C_{15}H_{14}O_6$	5.50	83.048 2,139.038 9,207.064 3,292.109 7
12	绿原酸	$[M-H]^-$	327-97-9	$C_{16}H_{18}O_9$	6.03	191.055 7
13	原花青素 B2	$[M+H]^+$	29106-49-8	$C_{30}H_{26}O_{12}$	8.06	127.038 7,409.090 9
14	7-羟基香豆素	$[M-H]^-$	93-35-6	$C_9H_6O_3$	12.43	59.013 9,77.039 8,105.035 2,133.030 0,161.026 4
15	异阿魏酸	$[M-H]^-$	537-73-5	$C10H10O_4$	14.35	77.040 0,89.042 0,106.042 4,134.037 0,178.027 4,193.050 3
16	异夏佛塔苷	$[M-H]^-$	52012-29-0	$C_{26}H_{28}O_{14}$	14.58	353.067 0,563.140 0
17	荭草苷	$[M-H]^-$	28608-75-5	$C_{21}H_{20}O_{11}$	14.74	327.050 6
18	夏佛塔苷	$[M+H]^+$	51938-32-0	$C_{26}H_{28}O_{14}$	14.76	121.027 6,294.053 6,355.082 4,433.093 6,493.115 0
19	维采宁-2	$[M-H]^-$	23666-13-9	$C_{27}H_{30}O_{15}$	14.81	147.045 4,253.053 7,353.065 4,473.107 5,593.149 9
20	芥子酸	$[M-H]^-$	530-59-6	$C_{11}H_{12}O_5$	14.87	93.033 1,121.030 1,164.041 9,193.014 7
21	山柰酚-3-O-龙胆二糖苷	$[M-H]^-$	22149-35-5	$C_{27}H_{30}O_{16}$	15.14	284.031 9,609.145 2
22	大豆苷	$[M+H]^+$	552-66-9	$C_{21}H_{20}O_9$	15.25	139.034 2,255.065 0,417.117 7
23	木犀草素	$[M+H]^+$	491-70-3	$C_{15}H_{10}O_6$	15.36	93.033 0,153.017 1,213.050 2,287.054 1
24	甘草苷	$[M-H]^-$	551-15-5	$C_{21}H_{22}O_9$	15.40	135.008 0,255.065 0
25	芹糖甘草苷	$[M-H]^-$	120926-46-7	$C_{26}H_{30}O_{13}$	15.59	135.008 2,255.064 8,256.069 4,549.159 7
26	异甘草素	$[M+H]^+$	961-29-5	$C_{15}H_{12}O_4$	15.69	137.022 4,257.079 5
27	山奈酚-3-O-芸香糖苷	$[M-H]^-$	17650-84-9	$C_{27}H_{30}O_{15}$	15.85	285.033 9
28	槲皮素	$[M+H]^+$	117-39-5	$C_{15}H_{10}O_7$	16.19	77.038 0,107.049 0,153.018 2,183.041 6,229.048 8,285.039 1,303.049 3
29	柚皮苷	$[M-H]^-$	10236-47-2	$C_{27}H_{32}O_{14}$	16.59	151.002 9,271.059 5
30	芸香柚皮苷	$[M+H]^+$	14259-46-2	$C_{27}H_{32}O_{14}$	16.76	273.073 8
31	小檗碱	$[M+H]^+$	2086-83-1	$C_{20}H_{18}NO_4^+$	16.76	292.095 9,336.122 6
32	异鼠李素-3-O-新橙皮苷	$[M-H]^-$	55033-90-4	$C_{28}H_{32}O_{16}$	16.79	145.086 0,227.034 9,315.051 0,413.089 8,503.127 3,623.161 9
33	紫云英苷	$[M-H]^-$	480-10-4	$C_{21}H_{20}O_{11}$	16.94	151.001 1,227.035 1,284.031 9,447.094 5
34	野漆树苷	$[M+H]^+$	17306-46-6	$C_{27}H_{30}O_{14}$	16.98	85.028 5,129.053 5,271.059 9,315.088 1,433.112 7,543.240 8,579.169 4
35	漆黄素	$[M+H]^+$	528-48-3	$C_{15}H_{10}O_6$	17.12	157.062 7,213.050 8,287.053 9
36	矢车菊素-3-O-葡萄糖苷	$[M+H]^+$	7084-24-4	$C_{21}H_{21}ClO_{11}$	17.12	85.027 9,163.041 5,231.057 7,287.054 3,413.120 8
37	新橙皮苷	$[M-H]^-$	13241-33-3	$C_{28}H_{34}O_{15}$	17.27	302.074 7,301.070 5
38	橙皮素	$[M+H]^+$	69097-99-0	$C_{16}H_{14}O_6$	17.44	153.017 7,177.054 2
39	金丝桃苷	$[M+H]^+$	482-36-0	$C_{21}H_{20}O_{12}$	17.44	153.017 7,303.085 0
40	洋川芎内酯 H	$[M+H]^+$	94596-27-7	$C_{12}H_{16}O_4$	17.89	91.053 8,207.100 7
41	金合欢素	$[M+H]^+$	480-44-4	$C_{16}H_{12}O_5$	18.21	153.015 6,242.054 7,285.075 4
42	异绿原酸 B	$[M-H]^-$	14534-61-3	$C_{25}H_{24}O_{12}$	18.27	173.045 1,353.087 0
43	异甘草苷	$[M-H]^-$	5041-81-6	$C_{21}H_{22}O_9$	18.45	119.050 1,135.008 5,254.058 7,255.065 3
44	芒柄花苷	$[M+H]^+$	486-62-4	$C_{22}H_{22}O_9$	18.64	269.078 2
45	白杨素	$[M+H]^+$	480-40-0	$C_{15}H_{10}O_4$	18.85	255.063 8
46	橙皮苷	$[M-H]^-$	520-26-3	$C_{28}H_{34}O_{15}$	18.94	301.071 2
47	芦丁	$[M+H]^+$	153-18-4	$C_{27}H_{30}O_{16}$	19.17	303.085 1
48	毛蕊异黄酮	$[M-H]^-$	20575-57-9	$C_{16}H_{12}O_5$	19.72	91.019 9,148.015 2,211.040 5,268.036 9

表 1(续)

No.	化合物	Adduct/Charge	CAS	分子式	保留时间/min	二级碎片
49	黄豆黄素	$[M+H]^+$	40957-83-3	$C_{16}H_{12}O_5$	19.93	137.023 4,169.061 4,213.052 5,253.047 6,285.074 6
50	毛蕊异黄酮苷	$[M+H]^+$	20633-67-4	$C_{22}H_{22}O_{10}$	20.71	285.074 7,447.292 4
51	柚皮素	$[M-H]^-$	67604-48-2	$C_{15}H_{12}O_5$	21.04	119.050 2,151.004 0
52	西红花苷-Ⅰ	$[M-H]^-$	42553-65-1	$C_{44}H_{64}O_{24}$	21.10	327.159 8,651.264 2
53	山奈酚	$[M+H]^+$	520-18-3	$C_{15}H_{10}O_6$	21.80	107.046 4,153.017 2,287.054 8
54	棕矢车菊素	$[M+H]^+$	18085-97-7	$C_{17}H_{14}O_7$	22.08	79.054 9,127.002 2,168.005 9,211.057 7,273.037 7,316.057 0
55	异橙黄酮	$[M+H]^+$	17290-70-9	$C_{20}H_{20}O_7$	22.69	153.017 5,181.012 4,315.084 8,343.078 9,373.126 9
56	芒柄花黄素	$[M-H]^-$	485-72-3	$C_{16}H_{12}O_4$	22.89	252.041 2,267.065 6
57	龙血素 A	$[M+H]^+$	119425-89-7	$C_{17}H_{18}O_4$	23.41	65.038 1,108.018 7,151.038 5,287.090 8
58	野黄芩素 4′,7-二甲基醚	$[M-H]^-$	10176-71-3	$C_{17}H_{14}O_6$	23.43	134.036 7,283.024 3
59	柠檬苦素	$[M+H]^+$	1180-71-8	$C_{26}H_{30}O_8$	23.96	161.059 2,425.194 5,471.200 0
60	异泽兰黄素	$[M-H]^-$	22368-21-4	$C_{18}H_{16}O_7$	24.45	186.032 4,270.016 8,313.034 9
61	川陈皮素	$[M+H]^+$	478-01-3	$C_{21}H_{22}O_8$	24.71	183.027 7,211.022 4,301.069 1,355.079 6,387.107 0
62	金腰乙素	$[M-H]^-$	603-56-5	$C_{19}H_{18}O_8$	24.77	285.003 5,328.021 4,358.068 0
63	桔红素	$[M+H]^+$	481-53-8	$C_{20}H20O_7$	26.00	211.022 3,297.073 8,343.081 9
64	桑根酮 H	$[M-H]^-$	86450-80-8	$C_{20}H_{18}O_6$	26.79	57.035 9,125.023 1,201.089 7,227.068 7
65	光甘草定	$[M-H]^-$	59870-68-7	$C_{20}H_{20}O_4$	27.44	109.030 9,135.046 7,201.093 8,279.138 7,308.106 1,323.130 6
66	藁本内酯	$[M+H]^+$	4431-01-0	$C_{12}H_{14}O_2$	27.48	79.054 0,91.053 9,117.069 5,145.100 8,173.095 5
67	亚麻酸	$[M+H]^+$	463-40-1	$C_{18}H_{30}O_2$	29.67	67.053 7,95.084 9,149.022 7,191.141 1,243.210 8,279.227 9
68	甘草次酸	$[M-H]^-$	471-53-4	$C_{30}H_{46}O_4$	30.88	96.960 7,191.060 6,355.264 7,469.332 3
69	白桦脂酸	$[M-H]^-$	472-15-1	$C_{30}H_{48}O_3$	34.24	303.893 7,455.354 2
70	亚油酸	$[M-H]^-$	60-33-3	$C_{18}H_{32}O_2$	35.38	279.230 8
71	棕榈酸	$[M-H]^-$	57-10-3	$C_{16}H_{32}O_2$	36.93	119.049 9,255.232 8

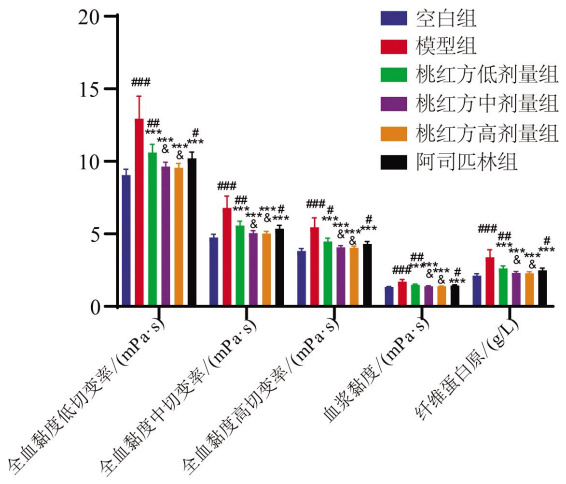


图 1　各组大鼠血液流变学指标比较

Fig.1　Comparison of hemorheological parameters among groups of rats

注：与空白组比较，$^{\#\#\#}P<0.001$；与模型组比较，$^{***}P<0.001$；与桃红方低剂量组比较，$^{\&}P<0.05$。

3.6.2　OPLS-DA 分析　模型验证图显示，OPLS-DA 模型的拟合度良好，表明分析结果具有较高的可靠性。详见图 6。

3.6.3　差异代谢物的筛选与鉴定　根据 OPLS-DA 模型得到的 VIP 值和 t 检验 P 值，对 4 组样本进行两两比较，以 VIP>1.2 且 $P<0.05$，并结合 FC≥2 和FC≤0.5 作为筛选潜在差异代谢物的条件。基于差异代谢物的精确相对分子质量，在 HMDB 和 KEGG 数据库中进行检索，以确定差异代谢物。导入MetaboAnalyst 6.0 网站对鉴别的差异代谢物进行代谢通路富集和分析，研究分析其生物标志物的代谢途径，进行代谢通路分析。正、负离子模式下，从大鼠血清中筛选出 24 个差异代谢物，其水平发生显著变化。与空白组比较，模型组有 3 个代谢物血清水平升高，21 个代谢物血清含量降低(见表 2)。桃红方高剂量组给药后使 23 个生物标记物水平升高。模型组中 EPA 及其下游代谢产物 5-羟基二十碳五烯酸(5-hydroxyeicosapentaenoic acid, 5-HEPE)、12-羟基二十碳五烯酸(12-hydroxyeicosapentaenoic acid, 12-HEPE)、15-羟基二十碳五烯酸 (15-hydroxyeicosapentaenoic acid, 15-HEPE)、5-酮基二十碳四烯酸(5-keto-eicosatetraenoic acid, 5-KETE)、12-酮基二十碳四烯酸(12-keto-eicosatetraenoic acid, 12-KETE)等水平均显著降低，而桃红方能显著升高这些代谢物水平。

3.6.4　代谢通路富集分析　KEGG 通路富集分析显示，桃红方升高的差异代谢物主要富集于多不饱和脂肪酸代谢、甘油磷脂代谢、甘氨酸/丝氨酸/苏氨酸代谢、能量代谢等 21 条通路。其中，多不饱和脂肪酸代谢通路富集程度最高，涉及 EPA、5-KETE、12-HEPE 等关键代谢物。详见图 7。

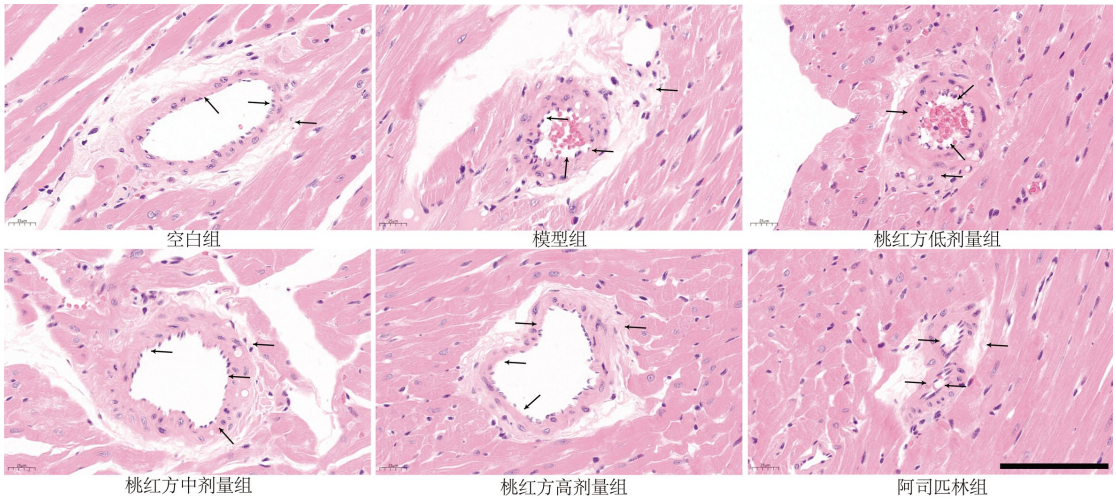


图 2　各组大鼠冠状动脉 HE 染色观察(×400,n=3,比例尺=100 μm)

Fig.2　HE staining of coronary arteries in rats from each group (×400, n=3, scale bar=100 μm)

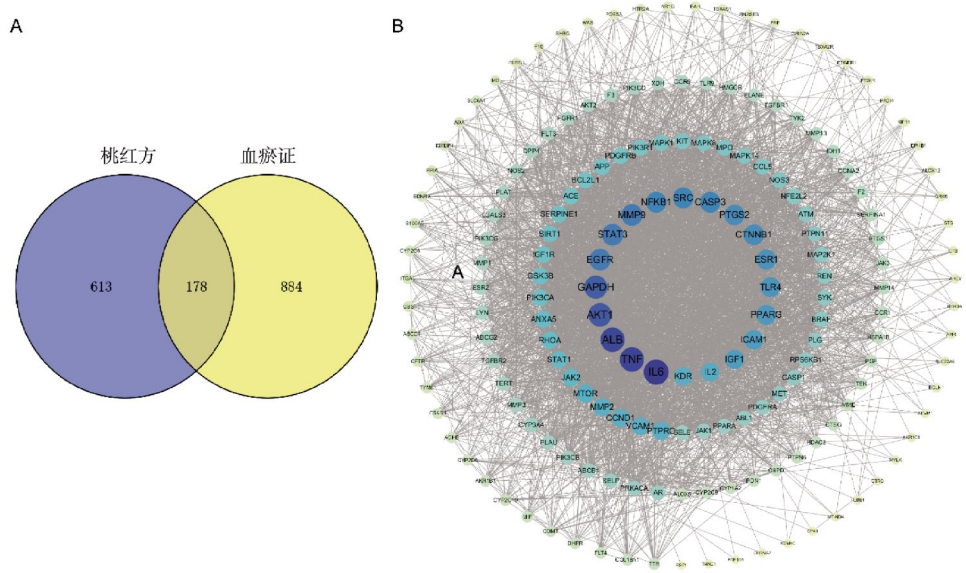


图 3　PPI 网络与核心靶点

Fig.3　PPI network and core targets

注:A.桃红方靶点与血瘀证靶点交集靶点图;B.桃红方治疗血瘀证的 PPI 网络图。

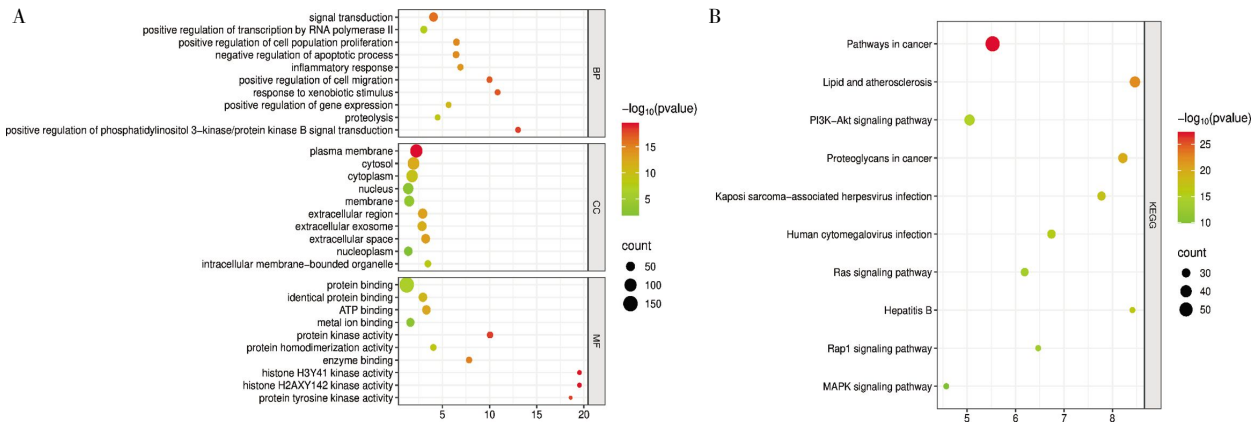


图 4　桃红方核心靶点的 GO 及 KEGG 通路富集分析

Fig.4　GO and KEGG pathway enrichment analyses of the core targets of Taohong Formula

注:A. GO 富集分析结果;B. KEGG 通路富集分析结果。

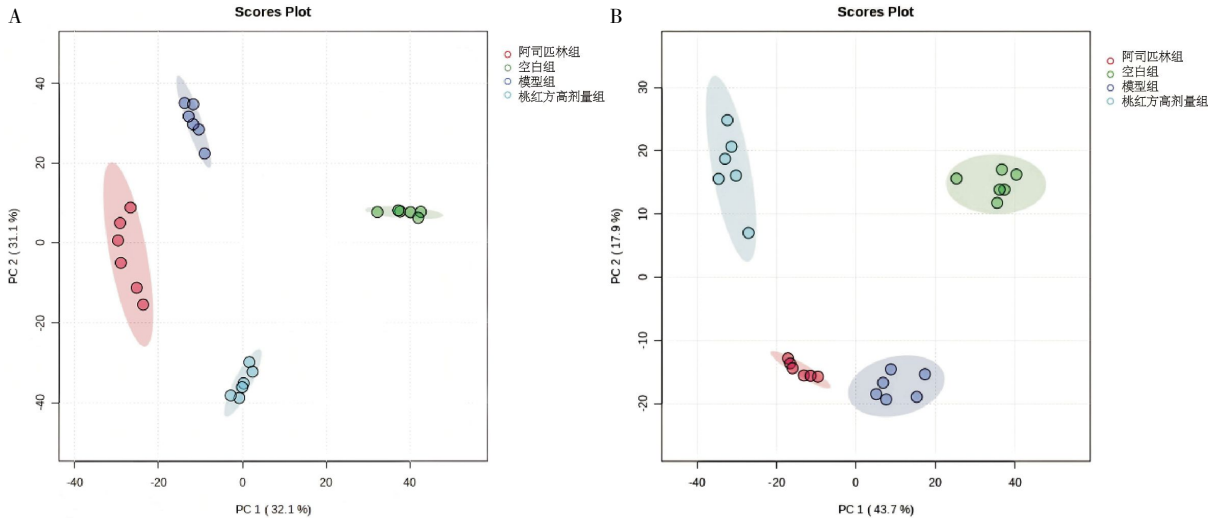


图 5　不同组间大鼠血清样品 PCA 评分图

Fig.5　PCA score plots of rat serum samples among different groups

注：A.正离子模式；B.负离子模式。

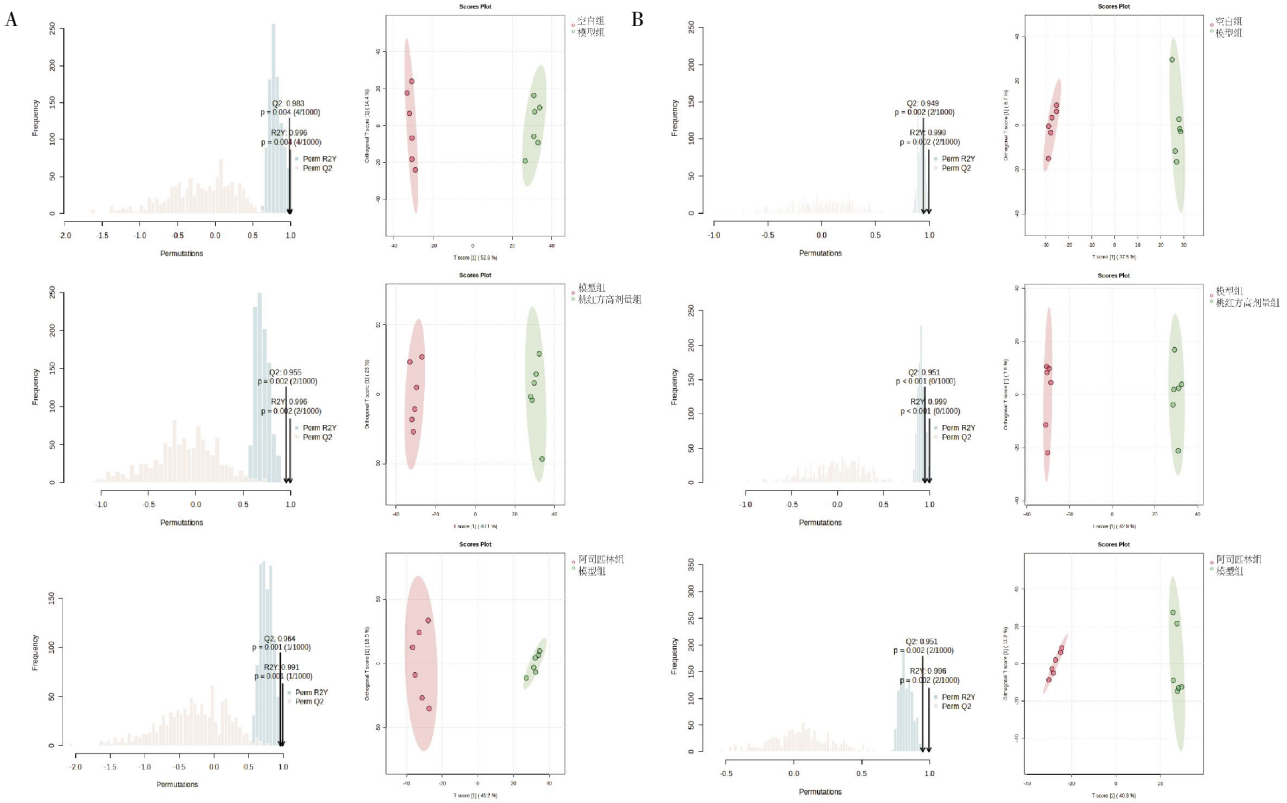


图 6　不同组间大鼠血清代谢组学 OPLS-DA 模型验证图及 OPLS-DA 评分图

Fig.6　OPLS-DA model validation plots and OPLS-DA score plots of rat serum metabolomics among different groups

注：A.正离子模式；B.负离子模式。

3.7　桃红方改善血瘀证的代谢组学与网络药理学整合分析

3.7.1　“代谢物-靶点基因”调控网络构建　将 24 个差异代谢物与 178 个核心靶点导入 MetaboAnalyst 6.0 平台，构建“代谢物-靶点基因”调控网络(图 8)。结果显示，ALB、CYP1A2、CYP3A4、EDNRA、IL6、MMP1、PPARA、PPARG、PTGS1、PTGS2、SERPINE1、VCAM1 等上游靶点可直接作用于代谢物 EPA；APP、CCL5、CCR1、C5AR1 等上游靶点可直接作用于代谢物 5-KETE。

3.7.2　桃红方对血清炎症与血管功能相关指标水平的影响　与空白组比较，模型组大鼠血清中 IL-6、TNF-α、ICAM-1、VCAM-1、TM、NF-κB1、SERPINE1、MMP-9、EGFR 及 NO 水平均升高($P<0.05$，$P<0.001$)，

表 2 差异代谢物的筛选与鉴定

Table 2 Screening and identification of differential metabolites

序号	差异代谢物	通用名	化学式	Mass/(g/mol)	模型组 vs 空白组		桃红方高剂量组 vs 模型组		阿司匹林组 vs 模型组	
					趋势	VIP	趋势	VIP	趋势	VIP
1	5-HEPE	5-羟基二十碳五烯酸	$C_{20}H_{30}O_3$	318.450 4	↓	1.33	↑	1.43	↓	1.47
2	12-HEPE	12-羟基二十碳五烯酸	$C_{20}H_{30}O_3$	318.450 4	↓	1.33	↑	1.43	↓	1.47
3	14,15-EpETE	14,15-环氧二十碳四烯酸	$C_{20}H_{30}O_3$	318.450 4	↓	1.33	↑	1.43	↓	1.47
4	15-HEPE	15-羟基二十碳五烯酸	$C_{20}H_{30}O_3$	318.450 4	↓	1.33	↑	1.43	↓	1.47
5	15-KETE	15-酮基二十碳四烯酸	$C_{20}H_{30}O_3$	318.450 4	↓	1.33	↑	1.43	↓	1.47
6	17,18-EpETE	17,18-环氧二十碳四烯酸	$C_{20}H_{30}O_3$	318.450 4	↓	1.33	↑	1.43	↓	1.47
7	5-KETE	5-氧代-二十碳四烯酸	$C_{20}H_{30}O_3$	318.450 4	↓	1.33	↑	1.43	↓	1.47
8	18R-HEPE	18R-羟基二十碳五烯酸	$C_{20}H_{30}O_3$	318.450 4	↓	1.33	↑	1.43	↓	1.47
9	12-KETE	12-酮基二十碳四烯酸	$C_{20}H_{30}O_3$	318.450 4	↓	1.33	↑	1.43	↓	1.47
10	9-HEPE	9-羟基二十碳五烯酸	$C_{20}H_{30}O_3$	318.450 4	↓	1.33	↑	1.43	↓	1.47
11	Quillaic acid 3-[galactosyl-(1->2)-glucuronide]	奎利亚酸 3-[半乳糖基-(1→2)-葡萄糖醛酸苷]	$C_{42}H_{64}O_{16}$	824.948 0	↑	1.53	↓	1.41	↓	1.51
12	Homovanillyl alcohol glucuronide	高香草醇葡萄糖醛酸苷	$C_{14}H_{18}O_8$	314.287 9	↓	1.23	↑	1.40	↓	1.37
13	(2E)-2-Heptenal	(2E)-2-庚烯醛	$C_7H_{12}O$	112.169 6	↓	1.25	↑	1.30	↓	1.34
14	Eicosapentaenoic acid	二十碳五烯酸	$C_{20}H_{30}O_2$	302.451 0	↓	1.32	↑	1.42	↓	1.45
15	(S)-3,4-Dihydroxybutyric acid	(S)-3,4-二羟基丁酸	$C_4H_8O_4$	120.103 9	↓	1.34	↑	1.48	↓	1.38
16	2,4-Dihydroxybutanoic acid	2,4-二羟基丁酸	$C_4H_8O_4$	120.103 9	↓	1.34	↑	1.48	↓	1.38
17	4-Deoxyerythronic acid	4-脱氧赤藓酸	$C_4H_8O_4$	120.103 9	↓	1.34	↑	1.48	↓	1.38
18	4-Deoxythreonic acid	4-脱氧苏糖酸	$C_4H_8O_4$	120.103 9	↓	1.34	↑	1.48	↓	1.38
19	A,b-Dihydroxyisobutyric acid	A,b-二羟基异丁酸	$C_4H_8O_4$	120.103 9	↓	1.34	↑	1.48	↓	1.38
20	Sulfolithocholic acid	磺石胆酸	$C_{24}H_{40}O_6S$	456.635 8	↑	1.56	↓	1.48	↑	1.40
21	Cystathionine ketimine	胱硫醚酮	$C_7H_9NO_4S$	203.215 7	↑	1.37	↓	1.41	↑	1.41
22	11-Oxo-androsterone glucuronide	11-氧代雄甾酮葡萄糖醛酸苷	$C_{25}H_{36}O_9$	480.547 9	↓	1.21	↑	1.43	↑	1.25
23	4-Ethylphenylsulfate	4-乙基苯基硫酸盐	$C_8H_{10}O_4S$	202.227 6	↓	1.25	↓	1.46	↑	1.28
24	2-Nonenal	2-壬烯醛	$C_9H_{16}O$	140.222 7	↓	1.33	↑	1.47	↑	1.26

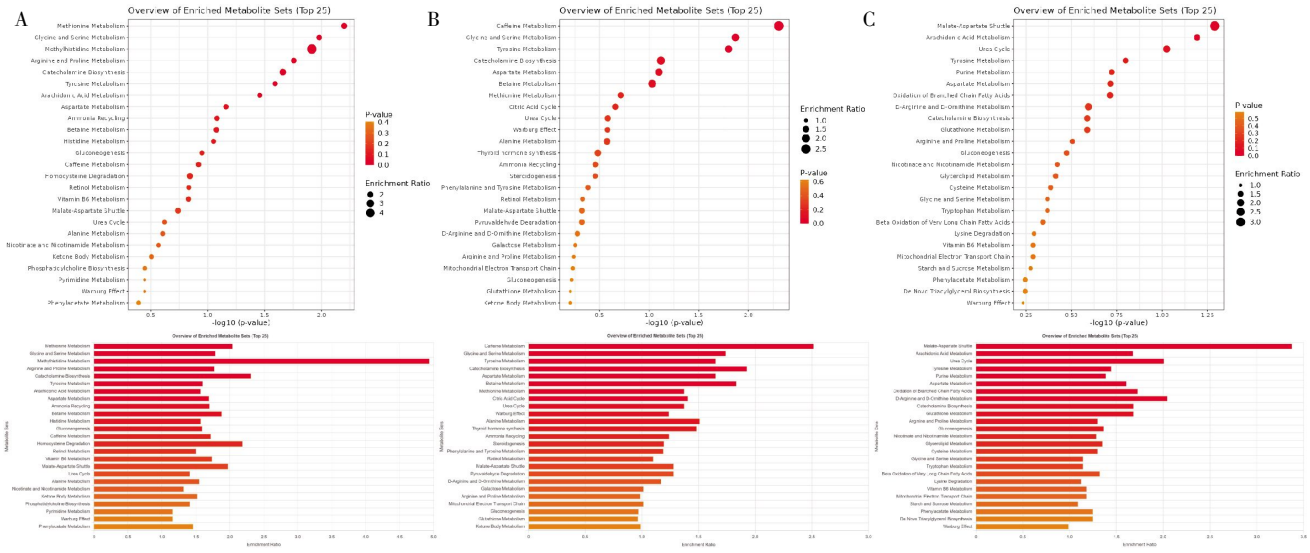


图 7 不同组间大鼠代谢通路富集分析

Fig.7 Metabolic pathway enrichment analysis among different groups of rats

注:A.模型组与空白组比较图;B.桃红方高剂量组与模型组比较图;C.阿司匹林组与模型组比较图。

而 ALB 水平显著降低(P<0.001)。与模型组比较,桃红方低、中、高剂量组及阿司匹林组 IL-6、TNF-α、EGFR、MMP-9、NF-κB1、ICAM-1、VCAM-1、SERPINE1、TM 水平均降低(P<0.05,P<0.01,P<0.001),桃红方低剂量组、高剂量组 ALB 水平升高(P<0.001),阿司匹林组 NO、ALB 水平降低(P<0.05,P<0.01)。与桃红方低剂量组比较,桃红方中、高剂量组、阿司匹林组 IL-6、TNF-α、EGFR、NF-κB1、ICAM-1、SERPINE1 水平均降低(P<0.05,P<0.01,P<0.001),阿司匹林组 MMP-9 水平升高(P<0.05),桃红方中剂量组、阿司匹林组 ALB 水平显著降低(P<0.001),桃红方高剂量组、阿司匹林组 VCAM-1、TM 水平显著降低(P<0.01,P<0.001),阿司匹林组 NO 水平显著降低(P<0.001)。与桃红方中剂量组比较,桃红方高剂量组、

阿司匹林组 IL-6、TNF-α、EGFR、NF-κB1、ICAM-1、VCAM-1、SERPINE1 水平均降低（$P<0.05$，$P<0.01$，$P<0.001$），桃红方高剂量组 ALB 水平显著升高（$P<0.001$），桃红方高剂量组 MMP-9 水平降低（$P<0.05$），阿司匹林组 MMP-9 水平显著升高（$P<0.001$），阿司匹林组 TM、NO 水平均显著降低（$P<0.01$，$P<0.001$）。与桃红方高剂量组比较，阿司匹林组 IL-6、TNF-α、ALB、ICAM-1、VCAM-1、TM、NO 水平均降低（$P<0.05$，$P<0.01$，$P<0.001$），MMP-9 水平显著升高（$P<0.001$）。详见图 9。

3.7.3　桃红方对心脏及肾脏组织中 ALOX5 与 NF-κB 蛋白表达水平的影响　在大鼠心脏组织中，ALOX5 主要定位于心肌细胞细胞质，呈棕褐色阳性染色；在肾脏组织中，ALOX5 主要定位于肾小管上皮细胞细胞质。与空白组比较，模型组心脏及肾脏组织中 ALOX5阳性染色均显著加深，平均光密度值显著升高。与模型组比较，桃红方低、中、高剂量组及阿司匹林组染色强度较模型组有所减弱。在大鼠心脏及肾脏组织中，NF-κB 主要定位于细胞质及细胞核，呈棕褐色阳性染色。与空白组比较，模型组心脏及肾脏组织中 NF-κB 阳性染色均显著加深，蛋白表达均升高。与模型组比较，桃红方低、中、高剂量组及阿司匹林组阳性染色均减弱。详见图 10。



图 8　桃红方改善血瘀证的代谢组学与网络药理学关联分析

Fig.8　Integrated metabolomics and network pharmacology analysis of the ameliorative effects of Taohong Formula on blood stasis pattern

注：红色为核心靶点；橙色为差异代谢物；紫色为关键靶点。

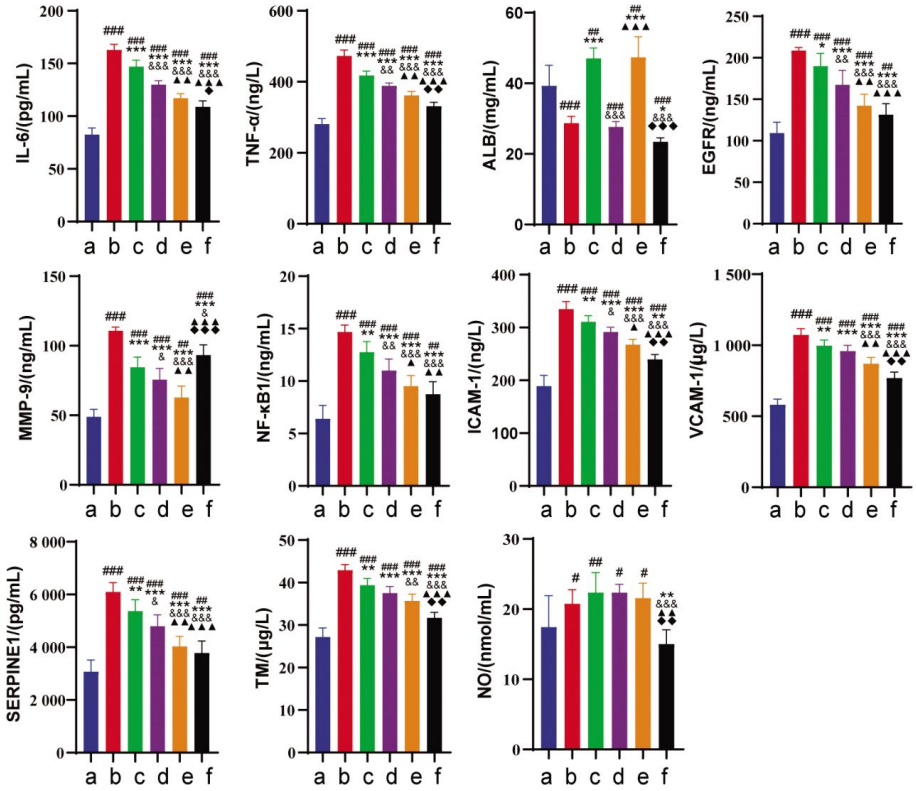


图 9　桃红方对血清 IL-6、TNF-α、ALB、EGFR、MMP-9、NF-κB1、ICAM-1、VCAM-1、SERPINE1、TM、NO 水平的影响

Fig.9　Effects of Taohong Formula on serum levels of IL-6, TNF-α, ALB, EGFR, MMP-9, NF-κB1, ICAM-1, VCAM-1, SERPINE1, TM, and NO

注：a.空白组；b.模型组；c.桃红方低剂量组；d.桃红方中剂量组；e.桃红方高剂量组；f.阿司匹林组。与空白组比较，$^{\#}P<0.05$，$^{\#\#\#}P<0.001$；与模型组比较，$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$，$^{***}P<0.001$；与桃红方低剂量组比较，$^{\&}P<0.05$，$^{\&\&\&}P<0.001$；与桃红方中剂量组比较，$^{\blacktriangle}P<0.05$，$^{\blacktriangle\blacktriangle\blacktriangle}P<0.001$；与桃红方高剂量组比较，$^{\blacklozenge}P<0.05$，$^{\blacklozenge\blacklozenge\blacklozenge}P<0.001$。

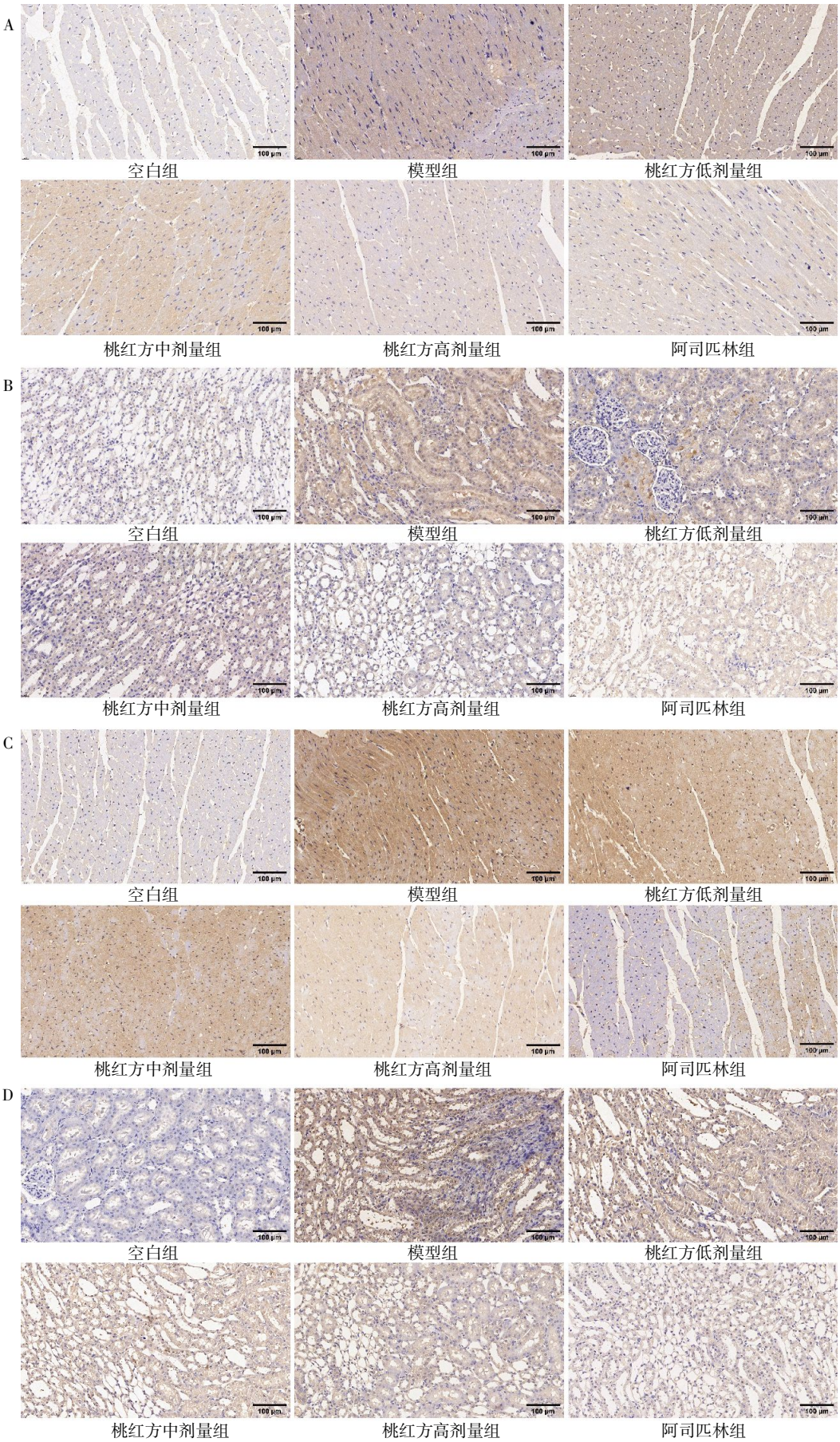


图 10 桃红方对高盐血瘀大鼠心脏及肾脏组织中 ALOX5 和 NF-κB 蛋白表达水平的影响(比例尺=100 μm,×400,n=3)

Fig.10 Effects of Taohong Formula on ALOX5 and NF-κB protein expression in cardiac and renal tissues of rats with high-salt diet-induced blood stasis (scale bar=100 μm, ×400, n=3)

注:A.心脏组织 ALOX5 蛋白表达;B.肾脏组织 ALOX5 蛋白表达;C.心脏组织 NF-κB 蛋白表达;D.肾脏组织 NF-κB 蛋白表达。

与空白组比较，心脏及肾脏组织中模型组ALOX5与 NF-κB 蛋白表达水平均显著升高（P<0.001）。与模型组比较，心脏及肾脏组织中桃红方低、中、高剂量组及阿司匹林组 ALOX5 和 NF-κB 蛋白表达水平均显著降低（P<0.01，P<0.001）。与桃红方低剂量组比较，心脏及肾脏组织中桃红方中、高剂量组及阿司匹林组 ALOX5 和 NF-κB 蛋白表达水平均显著降低（P<0.01，P<0.001）。与桃红方中剂量组比较，心脏及肾脏组织中桃红方高剂量组及阿司匹林组 ALOX5 和NF-κB 蛋白表达水平均降低（P<0.05，P<0.01，P<0.001）。与桃红方高剂量组比较，心脏组织中阿司匹林组ALOX5 蛋白表达水平均降低（P<0.05），肾脏组织中阿司匹林组 NF-κB 蛋白表达水平均显著降低（P<0.01）。详见图 11。

4 讨论

本实验通过给予高盐饮食建立血瘀证动物模型[14]。高盐饮食通过调节肠道微生物菌群，促进辅助性 T 细胞 17 的生成，加剧炎症反应[16]。内皮细胞周围钠离子的积累导致血管功能障碍[17]。实验结果表明，与空白组比较，模型组大鼠出现皮下瘀血、舌色紫暗等血瘀证候表现，血液流变学指标显著升高，提示造模成功。桃红方干预后，血瘀证模型大鼠的皮下瘀血以及舌色紫暗改善，血液流变学指标显著降低。网络药理学分析筛选出 178 个核心靶点。代谢组学分析筛选出 24 个潜在代谢标志物，其中 5-HEPE、12-HEPE、14,15-环氧二十碳四烯酸（14,15-epoxyeicosatetraenoic acid, 14,15-EpETE）、15-HEPE、15-KETE、17,18-环氧二十碳四烯酸（17,18-epoxyeicosatetraenoic acid, 17,18-EpETE）、5-KETE、18R-羟基二十碳五烯酸（18R-hydroxyeicosapentaenoic acid, 18R-HEPE）等均为多不饱和脂肪酸，差异代谢物主要富集于多不饱和脂肪酸代谢通路。5-HEPE 是 EPA 的代谢产物，可通过 5-氧代二十碳五烯酸激活血管内皮细胞中核因子 E2 相关因子 2（nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2），进而诱导抗氧化酶表达[18]。12-HEPE 是 EPA 经 12-脂加氧酶代谢生成的产物，可直接抑制血小板活化[19]。14,15-EpETE 可减轻再灌注损伤[20]。15-HEPE 可以抑制胶原蛋白诱导的血小板聚集[21]。15-KETE 由 15-羟前列腺素脱氢酶催化生成，可激活 Nrf2 介导的抗氧化反应[22]。17,18-EpETE 能抑制中性粒细胞活动及炎症反应[23]。18R-HEPE 在炎症组织中由前体 EPA 生成，经活化内皮细胞释放后可被嗜中性粒细胞吸收，以调控血管炎症反应[24]。上述结果表明，多不饱和脂肪酸代谢通路在维持血管稳态、抗炎及抗血栓中发挥关键作用。

代谢物变化趋势显示，阿司匹林组在多个代谢物上与桃红方高剂量组呈现相反的调控方向。阿司匹林作为环氧合酶-1（cyclooxygenase-1, COX-1）/环氧合酶-2（cyclooxygenase-2, COX-2）不可逆抑制剂，主要通过乙酰化血小板 COX-1 的丝氨酸 529 位残基，完全阻断血栓素 A_2（thromboxane A_2, TXA_2）的生成[25]。但阿司匹林对多不饱和脂肪酸代谢网络的影响局限于环氧合酶（cyclooxygenase, COX）通路[26]。然而，这种代谢分流难以恢复 EPA 及其下游保护性代谢产物的水平[25]。因此，阿司匹林组中 EPA/HEPE 水平的回升幅度有限，而某些代谢物如胆汁酸衍生物、含硫氨基酸代谢物的异常升高，反映了抑制COX 通路后，底物向其他代谢通路的代偿性分流[27]。比较之下，桃红方通过多成分、多靶点的协同作用，以ALOX5 为关键调控节点，对多不饱和脂肪酸代谢网络进行

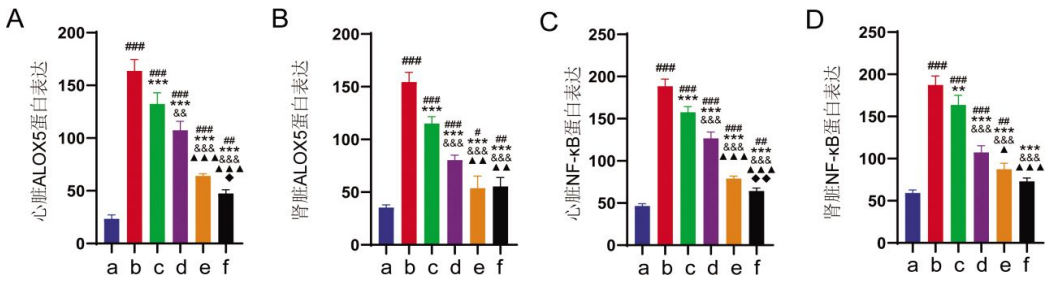


图 11　桃红方对高盐血瘀大鼠心脏及肾脏组织中 ALOX5 和 NF-κB 蛋白表达水平的定量分析

Fig.11　Quantitative analysis of the effects of Taohong Formula on ALOX5 and NF-κB protein expression in cardiac and renal tissues of rats with high-salt diet-induced blood stasis

注：a.空白组；b.模型组；c.桃红方低剂量组；d.桃红方中剂量组；e.桃红方高剂量组；f.阿司匹林组。与空白组比较，$^{\#\#\#}P$<0.001；与模型组比较，$^{**}P$<0.01，$^{***}P$<0.001；与桃红方低剂量组比较，$^{\&\&\&}P$<0.01，$^{\&\&\&}P$<0.001；与桃红方中剂量组比较，$^{\blacktriangle}P$<0.05，$^{\blacktriangle\blacktriangle}P$<0.01，$^{\blacktriangle\blacktriangle\blacktriangle}P$<0.001；与桃红方高剂量组比较，$^{\blacklozenge}P$<0.05，$^{\blacklozenge\blacklozenge}P$<0.01。

全面恢复。ALOX5 不仅是花生四烯酸生成白三烯的关键限速酶，也是 EPA 转化为保护性 HEPEs 的重要酶[28]。桃红方抑制 ALOX5的表达，既减少了促炎介质的生成，又可维持 EPA 向 HEPEs 的转化能力，实现对代谢网络的双向调节。

本研究采用 ELISA 检测大鼠血清中多个关键指标的水平。与空白组比较，模型组大鼠血清中 IL-6、TNF-α、ICAM-1、VCAM-1、TM、NO 水平均显著升高，提示模型组存在明显的炎症反应及血管内皮损伤。IL-6 是一种与先天免疫相关的关键细胞因子，在心血管疾病中起促动脉粥样硬化作用[16]。TNF-α 可激活 NF-κB 信号通路，诱导其他炎症因子的级联释放，参与血管内皮损伤[29]。ICAM-1 与VCAM-1 是介导白细胞黏附于血管内皮的关键黏附分子[30]。TM 是血管内皮表面的抗凝因子，其水平升高常反映内皮损伤[31]。NO 在炎症状态下可由诱导型一氧化氮合酶过量产生，发挥促炎作用[32]。同时，模型组 NF-κB1、SERPINE1、MMP-9 及 EGFR水平均显著高于空白组，而 ALB 水平显著降低。NF-κB 是炎症信号通路的中心转录因子，其活化可上调多种促炎基因表达[33]。SERPINE1 水平升高可抑制纤溶系统，促进血栓形成[34]。MMP-9 可降解细胞外基质，参与血管重构和斑块破裂[35]。EGFR 信号异常与血管平滑肌增殖和内皮功能障碍相关[36]。ALB作为抗氧化蛋白，其水平降低反映了慢性炎症状态下的代谢紊乱[37]。经桃红方低、中、高剂量及阿司匹林干预后，各给药组 IL-6、TNF-α、ICAM-1、VCAM-1 及 TM 水平均显著降低。阿司匹林组NO 水平显著降低。同时，桃红方低、中、高剂量组中的 EGFR、NF-κB1、MMP-9、SERPINE1 水平均呈剂量依赖性降低；桃红方低剂量与桃红方高剂量组ALB 水平显著升高。以上结果表明，桃红方可抑制NF-κB 介导的炎症反应、下调黏附分子和基质降解酶、减轻纤溶抑制，从而改善高盐血瘀大鼠的血管内皮功能。本研究的局限性包括：(1)代谢组学分析仅针对血清，未检测血管局部组织中的氧化脂质谱；(2)未使用 ALOX5特异性抑制剂或基因敲除动物进行验证。后续研究可采用靶向氧化脂质代谢组学进行代谢物定量，并构建 ALOX5 条件性敲除动物模型以验证其作用机制。

参考文献

[1] Chen Y, Zhang Y J. Interpretation of the pathological mechanism of blood stasis in traditional Chinese medicine in light of understanding of hypercoagulable states in modern medicine[J]. Chinese Medicine and Natural Products, 2025, 5(1): e30-e34.

[2] Xin Q Q, Chen X, Yuan R, et al. Correlation of platelet and coagulation function with blood stasis syndrome in coronary heart disease: a systematic review and meta-analysis[J]. Chinese Journal of Integrative Medicine, 2021, 27(11): 858-866.

[3] Ye X F, Ren H, Jiang T T, et al. Effect of diabetes blood-stasis syndrome and Xuefu Zhuyu decoction on ROS-ERK1/2 signaling pathway in rat retina Müller cells[J]. Cytotechnology, 2020, 72(2): 303-314.

[4] Li L, Yao D N, Lu Y, et al. Metabonomics study on serum characteristic metabolites of psoriasis vulgaris patients with blood-stasis syndrome[J]. Frontiers in Pharmacology, 2020, 11: 558731.

[5] 程柳杨, 樊哲廷, 夏健. 氧化脂质在脑血管病中的研究进展[J]. 中国卒中杂志, 2024, 19(12): 1409-1418.

[6] Lee M K S, Murphy A J. A high-salt diet promotes atherosclerosis by altering haematopoiesis[J]. Nature Reviews Cardiology, 2023, 20(7): 435-436.

[7] Drożdż D, Drożdż M, Wójcik M. Endothelial dysfunction as a factor leading to arterial hypertension[J]. Pediatric Nephrology, 2023, 38(9): 2973-2985.

[8] Jiang J Y, Lin S S, Li Q Q, et al. Comparative studies of the anti-thrombotic effects of saffron and HongHua based on network pharmacology[J]. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 2020, 19(7): 1441-1448.

[9] Huang S Y, Zhang J J, He X C, et al. Rapid screening of active components with thrombin inhibitory activity from peach kernel based on affinity ultrafiltration coupled with UPLC-Q-TOF-MS[J]. Chemistry & Biodiversity, 2025, 22(2): e202401239.

[10] Shen X, Wu Y Y, Chen P, et al. Anti-platelet aggregation activities of different grades of *Angelica sinensis* and their therapeutic mechanisms in rats with blood deficiency: insights from metabolomics and lipidomics analyses[J]. Frontiers in Pharmacology, 2023, 14: 1230861.

[11] Chen L L, Fan B, Wang F Z, et al. Research progress in pharmacological effects and mechanisms of *Angelica sinensis* against cardiovascular and cerebrovascular diseases[J]. Molecules, 2024, 29(9): 2100.

[12] Bai X F, Wang S W, Shu L M, et al. Hawthorn leaf flavonoids alleviate the deterioration of atherosclerosis by inhibiting SCAP-SREBP2-LDLR pathway through sPLA2-ⅡA signaling in macrophages in mice[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2024, 327: 118006.

[13] 李淑华, 刘安东. 川陈皮素对脂多糖诱导下牙周膜细胞的抗炎作用与细胞焦亡的研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2025, 41(6): 777-783.

[14] Guo Y, Xia L, Zhou X, et al. Effects of Danshen on inflammatory cytokines in rats with high-salt induced blood stasis[J].

Acta Medica Mediterranea, 2019, 35(1): 373-377.

[15] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1982: 1184.

[16] Kleinewietfeld M, Manzel A, Titze J, et al. Sodium chloride drives autoimmune disease by the induction of pathogenic TH17 cells[J]. Nature, 2013, 496(7446): 518-522.

[17] Hengel F E, Benitah J P, Wenzel U O. Mosaic theory revised: inflammation and salt play central roles in arterial hypertension[J]. Cellular & Molecular Immunology, 2022, 19(5): 561-576.

[18] Nagahora N, Yamada H, Kikuchi S, et al. Nrf2 activation by 5-lipoxygenase metabolites in human umbilical vascular endothelial cells[J]. Nutrients, 2017, 9(9): 1001.

[19] Goerger K A, Stanger L, Rickenberg A, et al. 12-hepe regulates the antiplatelet effects of epa, the ω-3 fatty acid[J]. Blood, 2024, 144: 3932.

[20] Dhanasekaran A, Gruenloh S K, Buonaccorsi J N, et al. Multiple antiapoptotic targets of the PI3K/Akt survival pathway are activated by epoxyeicosatrienoic acids to protect cardiomyocytes from hypoxia/Anoxia[J]. American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology, 2008, 294(2): H724-H735.

[21] Yamaguchi A, van Hoorebeke C, Tourdot B E, et al. Fatty acids negatively regulate platelet function through formation of non-canonical 15-lipoxygenase-derived eicosanoids[J]. Pharmacology Research & Perspectives, 2023, 11(1): e01056.

[22] Snyder N W, Golin-Bisello F, Gao Y, et al. 15-Oxoeicosatetraenoic acid is a 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase-derived electrophilic mediator of inflammatory signaling pathways[J]. Chemico-Biological Interactions, 2015, 234: 144-153.

[23] Nagatake T, Shiogama Y, Inoue A, et al. The 17, 18-epoxyeicosatetraenoic acid - G protein - coupled receptor 40 axis ameliorates contact hypersensitivity by inhibiting neutrophil mobility in mice and cynomolgus macaques[J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2018, 142(2): 470-484, e12.

[24] Fredman G, Serhan C N. Specialized pro-resolving mediators in vascular inflammation and atherosclerotic cardiovascular disease[J]. Nature Reviews Cardiology, 2024, 21(11): 808-823.

[25] Patrono C. Low-dose aspirin for the prevention of atherosclerotic cardiovascular disease[J]. European Heart Journal, 2024, 45(27): 2362-2376.

[26] Tarnawski A S, Caves T C. Aspirin in the XXI century: its major clinical impact, novel mechanisms of action, and new safer formulations[J]. Gastroenterology, 2004, 127(1): 341-343.

[27] Patrono C. Fifty years with aspirin and platelets[J]. British Journal of Pharmacology, 2023, 180(1): 25-43.

[28] Biringer R G. The enzymology of human eicosanoid pathways: the lipoxygenase branches[J]. Molecular Biology Reports, 2020, 47(9): 7189-7207.

[29] Groten S A, Langerhorst P, Malamas G, et al. Targeting synergetic endothelial inflammation by inhibiting NFKB and JAK-STAT pathways[J]. iScience, 2025, 28(9): 113307.

[30] Xie B L, Bie Y L, Song B C, et al. Zedoarondiol inhibits monocyte adhesion and expression of VCAM and ICAM in endothelial cells induced by oxidative stress[J]. Natural Product Research, 2026, 40(4): 1067-1073.

[31] Giri H, Biswas I, Rezaie A R. Thrombomodulin: a multifunctional receptor modulating the endothelial quiescence[J]. Journal of Thrombosis and Haemostasis, 2024, 22(4): 905-914.

[32] Prayoga D K, Aulifa D L, Budiman A, et al. Medicinal plants that modulate nitric oxide synthase activity: implications in inflammation and oxidative stress[J]. Drug Design, Development and Therapy, 2026, 20: 582323.

[33] Hoffmann A, Cheng G H, Baltimore D. NF-κB: master regulator of cellular responses in health and disease[J]. Immunity & Inflammation, 2025, 1(1): 2.

[34] Racine F, Louandre C, Demagny J, et al. Transcriptional induction of SERPINE1 and fibrinolysis inhibition as predominant effects of glucocorticoids on the cancer coagulome[J]. Anticancer Research, 2024, 44(8): 3269-3276.

[35] Liu B L, Su L P, Loo S J, et al. Matrix metallopeptidase 9 contributes to the beginning of plaque and is a potential biomarker for the early identification of atherosclerosis in asymptomatic patients with diabetes[J]. Frontiers in Endocrinology, 2024, 15: 1369369.

[36] Makki N, Thiel K W, Miller F J Jr. The epidermal growth factor receptor and its ligands in cardiovascular disease[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2013, 14(10): 20597-20613.

[37] Li Y H, Chen L R, Yang X, et al. Dynamic association of serum albumin changes with inflammation, nutritional status and clinical outcomes: a secondary analysis of a large prospective observational cohort study[J]. European Journal of Medical Research, 2025, 30(1): 679.

(本文编辑 徐易琳)