

鲜生地-淡豆豉同打炮制增强清热凉血功效的物质基础及活性评价

张霞¹, 刘雪¹, 刘晓¹, 蔡皓¹, 李伟东¹, 王奎龙^{2*}, 朱慧^{1*}

1. 南京中医药大学药学院/国家教育部中药炮制规范化及标准化工程研究中心, 江苏 南京 210023

2. 浙江中医药大学药学院, 浙江 杭州 310053

摘要: **目的** 分析鲜生地-淡豆豉同打炮制和配伍水煎液成分差异, 比较两组药物改善血热模型大鼠的功效差异, 并基于血浆和尿液代谢组学探究其清热凉血及同打增效的潜在作用机制。 **方法** 基于超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱 (ultra high performance liquid chromatography Q-exactive HF-X, UHPLC-Q-Exactive HF-X) 技术分析水煎液成分差异。采用干酵母结合无水乙醇复制血热模型, 监测各组大鼠体质量及肛温变化, 腹主动脉取血测定各切变率下全血黏度及凝血四项, HE 染色观察肺、胃组织的病理学变化。基于超高效液相色谱-四极杆-飞行时间串联质谱 (ultra high performance liquid chromatography quadrupole-time of flight tandem mass spectrometry, UHPLC-Q-TOF-MS/MS) 技术结合多元统计方法筛选大鼠血浆和尿液中与血热证相关的潜在生物标记物, 并分析同打组与配伍组改善血热证的代谢调控机制及差异。 **结果** 同打组水煎液共检测出 66 种成分, 配伍组水煎液共检测出 57 种成分。给药干预后, 血热大鼠的体质量增长率显著上升、肛温明显下降、各切变率下的全血黏度降低、凝血酶原时间 (prothrombin time, PT) 显著延长而活化部分凝血活酶时间 (activated partial thromboplastin time, APTT) 显著缩短, 肺、胃组织的炎症细胞浸润及出血等病理变化显著改善。其中, 与配伍组相比, 同打组对肛温、中高切变率下的全血黏度及脾胃组织的改善作用明显更佳。代谢组学结果显示, 在血热模型大鼠血浆及尿液中共鉴定出 55 种潜在生物标志物, 涉及 8 条代谢通路。药物干预后, 配伍组中有 20 种发生显著回调, 涉及 α -亚麻酸代谢、三羧酸循环和类固醇激素生物合成代谢通路; 而同打组中有 26 种发生显著回调, 涉及 5 条代谢通路。 **结论** 淡豆豉鲜生地同打可能通过调节鞘脂代谢及色氨酸代谢通路增强其清热凉血作用, 为鲜生地淡豆豉同打在中医临床上的应用提供了科学依据和合理支撑。

关键词: 鲜生地; 淡豆豉; 同打炮制品; 清热凉血; 代谢组学

中图分类号: R284; R286 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)19-7101-17

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.19.021

Material basis and active evaluation of enhancing effects of clearing heat and cooling blood fresh of *Rehmanniae Radix* and *Sojae Semen Praeparatum* by co-processing

ZHANG Xia¹, LIU Xue¹, LIU Xiao¹, CAI Hao¹, LI Weidong¹, WANG Kuilong², ZHU Hui¹

1. School of Pharmacy/Engineering Center of State Ministry of Education for Standardization of Chinese Medicine Processing, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

2. School of Pharmacy, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China

Abstract: Objective To analyze the differences of components between co-processed fresh *Rehmanniae Radix*-*Sojae Semen Praeparatum* (co-processing group) and the compatibility group, compare the efficacy differences and compatibility in improving blood-heat model rats, and explore the potential mechanism of both clearing heat and cooling blood effects and the synergistic effect of co-processing based on plasma and urine metabolomics. **Methods** Ultra high performance liquid chromatography Q-exactive HF-X (UHPLC-Q-Exactive HF-X) technology was employed to analyze compositional differences in the water decoctions. Rats were

收稿日期: 2025-05-20

基金项目: 国家自然科学基金青年项目 (82204621); 南京中医药大学国自然青年基金经费配套项目 (XPT82204621); 南京中医药大学中药炮制技术传承基地建设项目

作者简介: 张霞 (2001—), 女, 研究生, 从事中药炮制方向研究。E-mail: zx23427972@163.com

***通信作者:** 王奎龙 (1989—), 男, 副研究员, 硕士生导师, 从事中药炮制学研究。E-mail: wjwkl@126.com

朱慧 (1993—), 女, 博士, 讲师, 从事中药炮制理论和机制研究。E-mail: 300560@njucm.edu.cn

subcutaneously injected with dried yeast and given anhydrous ethanol to create a blood-heat model. Body mass and anal temperature of rats in each group were monitored. Blood was collected from the abdominal aorta to determine the whole blood viscosity and four coagulation parameters. Hematoxylin and eosin (HE) staining was used to observe the pathological changes in lung and stomach tissues. Ultra high performance liquid chromatography quadrupole-time of flight tandem mass spectrometry (UHPLC-Q-TOF-MS/MS) technology combined with multivariate statistical methods were employed to screen potential biomarkers related to blood-heat syndrome in plasma and urine samples. The metabolic regulation mechanisms and their differences of the processing group and the compatibility group in improving blood heat syndrome were analyzed. **Results** A total of 66 chemical components were detected in the co-processed group decoction, while 57 components were identified in the compatibility group decoction. After the intervention, the body mass growth rate of the diseased rats increased significantly, the anal temperature decreased significantly, the whole blood viscosity decreased at all shear rates, the PT time was prolonged while the APTT time was shortened, and the pathological changes such as inflammatory cell infiltration and hemorrhage in the lungs and stomach tissues were improved significantly. In particular, compared with the compatibility group, the processing group showed significantly better improvement in anal temperature, whole blood viscosity at medium and high shear rates, and pathological changes in lung and stomach tissues. Metabolomics results showed that 55 potential biomarkers were identified in plasma and urine of blood-heat model rats, involving eight metabolic pathways. After the intervention, 20 biomarkers were significantly regulated in the compatibility group, involving α -linolenic acid metabolism, steroid hormone biosynthesis, and citrate cycle metabolism pathways. Whereas 26 biomarkers were regulated considerably in the processing group, involving five metabolism pathways. **Conclusion** Fresh *Rehmannia Radix* processed with *Semem Sojae Praeparatum* may enhance its clearing heat and cooling blood effect by regulating sphingolipid metabolism and tryptophan metabolism pathways, which provides a scientific basis and reasonable support for the clinical application of fresh *Rehmanniae Radix* processed with *Sojae Semen Praeparatum* in traditional Chinese medicine.

Key words: fresh *Rehmanniae Radix*; *Sojae Semen Praeparatum*; co-processed products; clearing heat and cooling blood; metabolomics

鲜生地与淡豆豉合用，最早可追溯至东晋《肘后备急方》黑膏方，用于治疗温病热毒发斑、大疫难救，因功效显著一直被后世医家沿用。清朝末年至民国时期温病流行频繁，江苏地区的龙砂医派柳宝诒、孟河医派丁甘仁、吴门医派曹沧洲等众医家仿黑膏之意并结合临证用药经验，遣方重视药物炮制，以药制药，继承并发掘出“淡豆豉鲜生地同打”这一独具特色的炮制方法^[1-3]。

“同打”即根据临床用药需要，将 2 味药按一定比例放在容器内打碎或打烂的炮制方法，属于中药炮制中“以药制药”的特殊炮制技术^[4]。其目的是取各药之长，制其太过或扶其不足，定向增强或双向兼顾发挥其独特作用，从而有效调整药性增效减毒^[5]。鲜生地性味甘寒，清热滋阴、凉血止血；淡豆豉性味辛温，解肌发表、宣郁除烦，经同打后以获表里中和之效，妙在清营而不滞邪，透邪而不伤正，为治疗热入营血之要药，临床常用来治退高热^[6-7]。

热邪深入营血分易引起耗伤营阴、迫血妄行，临床主要表现为身热夜甚、斑疹、吐血、衄血等症，相当于现代医学中流行性出血热、流行性乙型脑炎、流行性脑脊髓膜炎等多种具有发热性质的传染性和感染性疾病^[8-10]。由于起病急、传变快、病情较重等特点，因此难以有效防治，从古至今严重威

胁人类的身体健康和生命安全。至现代，国医大师张镜人及颜德馨临证仍善用淡豆豉、鲜生地同打以治热邪深入营血分所致的急证、热证，且颇具奇效^[11-12]。遗憾的是，文献查阅发现，鲜生地、淡豆豉同打的药效及机制研究目前仍为空白，极大地限制了鲜生地淡豆豉同打炮制技术的传承及其炮制品的临床推广应用。因此，本实验首先分析了鲜生地、淡豆豉同打前后水煎液中的成分差异，考察了同打前后对血热模型大鼠的治疗效果，并进一步基于代谢组学技术，在筛选获得与血热证相关生物标志物的基础上，分析鲜生地、淡豆豉同打前后对潜在生物标记物及参与代谢通路的整体调控作用，进而探讨鲜生地、淡豆豉同打的清热凉血及同打增效机制。

1 材料

1.1 仪器

UHPLC-Q-Exactive HF-X 型超高效液相色谱串联傅里叶变换质谱仪（赛默飞公司）；30A 超高效液相色谱仪（日本 Shimadzu 公司，配备有 LC-30A 四元液相泵，SIL-30AC 型自动进样器，CTO-20A 型柱温箱和 DGU-20A5R 在线脱气机）；Q-TOF-MS/MS 5600⁺质谱仪（美国 AB Sciex 公司，ESI 离子源）；JXDC-20 型氮气吹扫仪（上海净信实业发展有限公司）；LNG-T88 型台式快速离心浓缩干燥器（太仓

市华美生化仪器厂); Wonbio-96c 型高通量组织破碎仪(上海万柏生物科技有限公司); SBL-10DT 型超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司); Centrifuge 5430R 型高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司); NewClassic MF MS105DU 型电子天平(瑞士梅特勒公司)。GeneSpeedX1 微量离心机(基因生物技术国际贸易有限公司); Milli-Q Integral-3 型超纯水仪(美国 Millipore 公司); Multi Reax 全能型涡旋振荡器(德国 Heidolph 公司)。

1.2 试药

鲜生地样品购自河南,批号 20230301,经河南农业大学李娟教授鉴定为玄参科地黄属植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch. 的新鲜块根; 淡豆豉样品购自四川盛世锦荣药业有限公司,批号 230101,经鉴定为豆科植物大豆 *Glycine max* (L.) Merr. 的成熟种子(黑豆)发酵加工品,均符合《中国药典》2020 年版标准。云南白药购自云南白药集团股份有限公司(批号 ZKA2203),无水乙醇(20240221),活化部分凝血活酶时间(activated partial thromboplastin time, APTT)检测试剂盒(批号 STY20201-71-7)、凝血酶时间(thrombin time, TT)检测试剂盒(批号 STY20301-58-4)、凝血酶原时间(prothrombin time, PT)检测试剂盒(批号 STY20101-77-9)、纤维蛋白原(fibrinogen, FIB)检测试剂盒检测试剂盒(批号 STY20401-63-4)均购自泰州中勤世帝生物科技有限公司,枸橼酸钠真空采血管(批号 20231112)、一次性采血针(批号 20231106)均购于南京巴斯菲生物科技有限公司,甲酸(批号 75C1812LP)购自美国 Anaqua 化学公司, *L*-2-氯苯丙氨酸(批号 C2001)购自上海恒柏生物科技有限公司,甲醇(批号 10934235805)、乙腈(批号 11222729226)、异丙醇(批号 K50189840818)均购自德国 Merck 公司。

1.3 动物

SPF 级 SD 大鼠,雄性,体质量(220±20) g,购自河南斯克贝斯生物科技有限公司,实验动物生产许可证号: SCXK(豫)2020-0005。实验前适应性饲养 1 周,大鼠自由饮水,进食标准大鼠饲料,温度(22±2)℃,湿度 40%~60%。所有动物的实验操作均符合国家实验动物护理和使用指南的要求,且所有动物实验操作均获得南京中医药大学实验动物伦理委员会的伦理批准(伦理编号 202310A038)。

2 方法

2.1 ig 药液的制备

取淡豆豉打碎,过七号筛,随后将加入一定比例的鲜生地(鲜生地-淡豆豉 12:9)放入冲筒内同打至混合均匀,室温下放置 5 h 后,即得鲜生地、淡豆豉同打炮制品。取鲜生地淡豆豉同打炮制品,加入 10 倍量水浸泡 30 min 后武火煎至沸腾,改用文火煎煮 20 min,四层纱布滤过,药渣再加 8 倍量水煎煮 20 min,纱布滤过,合并 2 次滤液,采用旋转蒸发仪浓缩至 0.378 g/mL,即得同打组水煎液。取粉碎后的淡豆豉与鲜生地,采用上述方法煎煮浓缩至 0.378 g/mL,即得配伍组水煎液。取云南白药粉末适量,用蒸馏水溶解,配制成 50 mg/mL 的云南白药混悬液。称量干酵母粉适量,置于研钵中,逐渐加入蒸馏水研磨成混悬液,最后定容至 100 mL,制成质量浓度为 0.2 g/mL 干酵母混悬液,现用现配。

2.2 各样品溶液成分的分析

2.2.1 供试品溶液的制备 精密吸取 100 μL 同打组及配伍组水煎液适量,加入 400 μL 含有内标(*L*-2-氯苯丙氨酸 0.02 mg/mL 等)的提取液(乙腈-甲醇 1:1),涡旋混匀 30 s 后,低温超声提取 30 min(5℃、40 kHz),将样品静置于-20℃、30 min。4℃、13 000 r/min 离心 15 min,移取上清液,氮气吹干,100 μL 复溶液(乙腈-水 1:1)复溶,低温超声萃取 5 min(5℃、40 kHz),4℃、13 000 r/min 离心 10 min,移取上清液至带内插管的进样小瓶中上机分析,平行 6 份。

2.2.2 质谱条件 UHPLC-Q Exactive HF-X 超高效液相色谱串联傅里叶变换质谱仪,信号采集采用正负离子扫描模式,质量扫描范围 m/z 70~1 050。离子喷雾电压:3 500 V(+)/-3 000 V(-),鞘气 345 kPa(50 psi),辅助加热气 90 kPa(13 psi),离子源加热温度 450℃,循环碰撞能 20→40→60 V,分辨率 60 000(MS^1)/7 500(MS^2)。

2.2.3 色谱条件 HSS T3 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm),流动相为 0.1%甲酸-5%乙腈水(A),0.1%甲酸-5%水-47.5%异丙醇乙腈(B);梯度洗脱:0~3 min, 0~20% B; 3~4.5 min, 20%~35% B; 4.5~5 min, 35%~100% B; 5~6.3 min, 100% B; 6.3~6.4 min, 100% B~100% A; 6.4~8 min, 100%A; 体积流量 0.40 mL/min,进样量 3 μL,柱温 40℃。

2.3 动物实验

2.3.1 给药剂量的确定 鲜生地淡豆豉同打炮制品给药剂量为每日 21 g, 人的平均体质量按 70 kg 计, 则其临床给药剂量为每日 0.3 g/kg (以总生药量计)。大鼠与人按体质量计算的等效剂量的比值为 6.3^[13], 则大鼠 ig 鲜生地淡豆豉同打炮制品临床等效剂量为 1.89 g/(kg·d), 根据课题组前期预实验研究结果, 大鼠给予鲜生地淡豆豉同打炮制品临床等效剂量的 2 倍 3.78 g/kg 具有较好的清热凉血作用。因此, 本实验确定鲜生地淡豆豉同打炮制品给药剂量为 3.78 g/kg。

2.3.2 分组、造模及给药 取 SPF 级 SD 雄性大鼠 30 只适应性饲养后, 随机分为空白组、模型组、阳性对照云南白药组、同打组及配伍组。空白组和模型组大鼠给予纯水 0.1 mL/kg, 其余各给药组给予相应药液 0.1 mL/kg, 每日 1 次, 连续 ig 6 d。第 7 天开始造模, 空白组大鼠背部两侧 sc 蒸馏水 0.1 mL/kg, 其余各组背部 im 20%干酵母液 0.1 mL/kg, 待大鼠高温稳定不变时, 除空白组外, 各组大鼠 ig 给予 1 mL 无水乙醇, 空白组 ig 给予 1 mL 纯水。上述操作完成后观察大鼠 1 h 后, 空白组和模型组 ig 0.1 mL/kg 纯水, 其余各组 ig 相应等体积受试药物。第 8 天时, 对大鼠最后 1 次 ig 给予相应受试药物治疗^[14-15]。

2.3.3 生物样品的采集 末次给药 12 h 后, 大鼠禁食不禁水, 采用代谢笼收集尿液于离心管中, -80 °C 保存。随后 ip 10%戊巴比妥钠 (0.03 mL/kg) 溶液对所有大鼠进行麻醉, 麻醉后腹主动脉取血于含有肝素钠溶液抗凝的真空采血管中及含有 3.8%枸橼酸钠抗凝的真空采血管中。4 000 r/min 离心 10 min 后取上清, 即为血浆样品, -80 °C 保存。采集的肺及胃组织置于 -80 °C 冷冻保存。

2.3.4 体质量及肛温检测 初次及末次给药前称量大鼠体质量, 按照体质量增长率=(末次给药前体质量-初始体质量)/初始体质量, 计算各组大鼠体质量增长率。皮下注射干酵母后用鼠架将大鼠固定, 在电子体温计的顶端涂少许液体石蜡, 缓慢送入肛口 2 cm 深处, 放置 3 min 后取出, 记录体温计温度。在造模前和造模后 1、2、3、4、5 h 测定各组大鼠肛温, 记录肛温变化情况。

2.3.5 血液流变学及凝血四项指标检测 精密吸取全血 2 mL 注入血液流变仪, 分别测定 1、5、30、200 切变率下的全血黏度。精密吸取上清血浆, 采

用血凝分析仪分别测定 PT、APTT、TT 和 FIB 水平, 实验于 4 h 内完成。

2.3.6 病理组织切片染色观察 取肺、胃组织置于 4%多聚甲醛中固定 24 h 后脱水, 石蜡制片, 用苏木精-伊红染色 (HE 染色), 树胶固封, 显微镜下进行病理观察。

2.4 代谢组学数据收集

2.4.1 生物样品的制备 精密吸取 150 μ L 室温溶解的血浆或尿液样品置于 1.5 mL 离心管中, 加入 450 μ L 质谱级甲醇沉淀蛋白, 涡旋 5 min, 13 000 r/min 离心 10 min, 转移上清液于 1.5 mL 离心管中, 再次离心, 取上清液至液相小瓶用于 UHPLC-Q-TOF-MS/MS 进样分析。分别等量吸取每份血浆及尿液样本 20 μ L, 混合均匀得到血浆 QC 样本和尿液 QC 样本, 用于检测仪器稳定性和重复性。

2.4.2 质谱条件 开启动态背景扣除 (DBS) 功能, 采用电喷雾离子源 ESI 在正、负离子模式下进行高灵敏度扫描。TOF MS 和 TOF MS/MS 分别以 m/z 100~2 000、50~1 500 进行全扫描, 两者累计运行时间分别为 150、50 ms; 喷雾辅助气体氮气。一级质谱 ESI/MS^{-/+}, 运行参数设置如下: 离子源 GS1 379 kPa (55 psi); 离子源 GS2 379 kPa (55 psi); 气帘气 CUR 241.5 kPa (35 psi); 温度 550 °C (-)/550 °C (+); 离子喷射电压 ISVF-4 500 V/+5 500 V; 去簇电压 (DP) -60 V/+60 V; 碰撞能量 (CE) -10 V/+10 V。二级质谱 ESI/MS² (-/+), 运行参数设置如下: 高灵敏度扫描; 去簇电压 (DP) -60 V/+60 V; 碰撞能量 (CE) -40 V/+40 V; CES 设置为 20.000; 离子释放延迟 IRD 设置为 66.633; 离子释放宽度 IRW 设置为 24.917。

2.4.3 色谱条件 Zorbax Extend C₁₈ UHPLC 柱 (100 mm×2.1 mm, 1.8 μ m), 流动相为 0.1%甲酸水 (A)-乙腈 (B); 梯度洗脱: 0~10 min, 5%→58%B; 10~25 min, 58%→95%B; 25~27 min, 95%B; 27~29 min, 95%→5%B; 29~31 min, 5%B; 体积流量 0.3 mL/min, 进样量 3 μ L, 柱温 35 °C。

2.5 数据处理

2.5.1 水煎液化学成分数据处理 原始数据导入代谢组学处理软件 Progenesis QI (Waters Corporation, Milford, 美国) 进行基线滤过、峰识别、积分、保留时间校正、峰对齐, 最终得到 1 个保留时间、质荷比和峰强度的数据矩阵, 同时将质谱信息与自建数据库进行匹配, 得到代谢物信息。

2.5.2 生物样本数据处理 将 Analyst TF 1.6 软件采集到的各组谱图导入 MarkerView™ 进行峰识别和峰对齐, 去除同位素峰后, 得到由保留时间、质荷比和峰强度组成的三维数据矩阵。将标准化处理后的数据导入 SIMCA 14.1 软件进行多元统计分析, 通过无监督模式的主成分分析 (principal component analysis, PCA) 初步观察不同组别大鼠的体内代谢差异, 进一步通过监督模式下的正交偏最小二乘法判别分析 (orthogonal projections to latent structures-discriminant analysis, OPLS-DA), 以 VIP>1 和 P<0.05 为标准筛选可能对分类有显著作用的内源性差异代谢物, 在人类代谢组数据库 (human metabolome database, HMDB) 和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 公共数据库中查询其精确的相对分子质量, 获取潜在差异内源性小分子代谢物的名称, 结合 PeakView™ 软件完成差异内源性代谢物的鉴定, 利用 MetaboAnalyst 对获取的差异内源性代谢物进行代谢通路的相关分析。

2.6 统计学分析

采用 SPSS 26.0 软件对数据进行统计分析。多组样本间比较采用单因素方差分析, 若方差齐则用 LSD 法进行组间两两比较, 若方差不齐则采用 Tamhane T2 进行组间两两比较, P<0.05 表示差异有统计学意义。以同打组及配伍组水煎液中各成分响应为矩阵 1, 各项药效指标结果为矩阵 2 进行两矩阵 Spearman 相关性分析 (cloud.majorbio.com) 并进行相关性热图绘制, P<0.05 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各样品液化学成分分析

通过与成分库比对的方法, 基于保留时间、一级质谱、二级质谱定性, 在正离子模式下共鉴定出 38 种化学成分, 负离子模式下共鉴定出 32 种化学成分, 去除重复后, 最终于正、负离子模式下初步鉴定出 66 种化学成分。鉴定结果见表 1。所有成分中, 有 9 个成分仅存在于同打组中, 分别为鸟嘌呤 (16)、亮氨酸脯氨酸 (19)、6-甲基喹啉 (34)、N-

表 1 同打组及配伍组溶液中的化学成分
Table 1 Chemical composition of aqueous extracts from co-processing group and compatibility group

序号	化合物	分子式	t _R /min	理论值 (m/z)	实测值 (m/z)	误差 (×10 ⁻⁶)	离子模式	离子碎片 (m/z)	配伍	同打
1	组胺	C ₅ H ₉ N ₃	0.47	112.086 9	112.087 1	1.50	[M+H] ⁺	68.049 9, 83.060 9, 95.060 7	+	+
2	组氨酸	C ₆ H ₉ N ₃ O ₂	0.57	154.062 2	154.061 4	-4.95	[M-H] ⁻	80.036 8, 93.044 8	+	+
3	D/L-精氨酸	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	0.60	175.119 0	175.118 7	-1.44	[M+H] ⁺	70.065 6, 115.086 1, 158.092 0	+	+
4	D/L-脯氨酸	C ₅ H ₉ NO ₂	0.64	116.070 6	116.070 7	1.14	[M+H] ⁺	68.050 2, 70.065 7, 116.070 3	+	+
5	蜜二糖	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	0.67	341.108 9	341.109 3	1.50	[M-H] ⁻	71.012 7, 89.023 3, 119.034 0	+	+
6	腺嘌呤	C ₅ H ₅ N ₅	0.68	136.061 8	136.061 7	-0.53	[M+H] ⁺	94.040 1, 119.035 2	+	+
				134.047 2	134.046 3	-6.64	[M-H] ⁻	92.024 3, 107.035 2	+	+
7	N-乙酰组胺	C ₇ H ₁₁ N ₃ O	0.68	154.097 5	154.097 3	-1.12	[M+H] ⁺	95.060 7, 112.087 0, 136.086 8	+	+
8	海藻糖	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	0.75	341.108 9	341.109 3	1.15	[M-H] ⁻	89.023 3, 101.023 3, 179.055 5	+	+
9	缬氨酸	C ₅ H ₁₁ NO ₂	0.85	118.086 3	118.086 4	0.94	[M+H] ⁺	55.054 8, 72.081 3	+	+
10	尿酸	C ₅ H ₄ N ₄ O ₃	1.00	167.021 1	167.020 6	-3.05	[M-H] ⁻	96.019 2, 124.014 2	+	+
11	烟酰胺	C ₆ H ₆ N ₂ O	1.01	123.055 3	123.055 3	0.45	[M+H] ⁺	78.034 5, 80.049 9, 106.028 7	+	+
12	次黄嘌呤	C ₅ H ₄ N ₄ O	1.04	137.045 8	137.045 7	-0.56	[M+H] ⁺	94.040 4, 110.034 9, 119.034 7	+	+
13	反式乌头酸	C ₆ H ₆ O ₆	1.28	137.045 8	173.008 6	-3.03	[M-H] ⁻	85.028 4, 129.018 3	+	+
14	梓醇	C ₁₅ H ₂₂ O ₁₀	1.77	361.114 0	361.114 7	1.70	[M-H] ⁻	151.039 2, 169.049 8, 199.061 2	+	+
15	腺苷	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	1.89	268.104 3	268.103 5	-2.08	[M+H] ⁺	119.035 4, 136.061 6	+	+
16	鸟嘌呤	C ₅ H ₅ N ₅ O	1.89	152.056 7	152.056 6	-0.75	[M+H] ⁺	110.035 1, 135.030 0	-	+
				150.042 1	150.041 3	-5.27	[M-H] ⁻	108.019 5, 133.014 6	-	+
17	L-苯丙氨酸	C ₉ H ₁₁ NO ₂	2.37	166.086 3	166.086 1	-1.06	[M+H] ⁺	103.054 5, 120.080 8	+	+
				164.071 7	164.071 1	-3.96	[M-H] ⁻	91.054 2, 103.054 7, 119.049 3	+	+
18	桃叶珊瑚苷	C ₁₅ H ₂₂ O ₉	2.76	345.119 1	345.119 7	1.10	[M-H] ⁻	165.054 9, 183.064 8	+	+

表 1 (续)

序号	化合物	分子式	tr/min	理论值 (<i>m/z</i>)	实测值 (<i>m/z</i>)	误差 ($\times 10^{-6}$)	离子模式	离子碎片 (<i>m/z</i>)	配伍	同打
19	亮氨酸脯氨酸	C ₁₁ H ₂₀ N ₂ O ₃	2.83	229.154 7	229.154 3	-1.72	[M+H] ⁺	70.065 6, 86.096 8, 116.070 7	-	+
20	益母草苷	C ₁₅ H ₂₄ O ₉	2.86	349.149 3	349.148 5	-1.36	[M+H] ⁺	123.080 5, 151.074 8, 169.085 0	+	+
21	<i>N</i> -(5-乙酰氨基戊基)乙酰胺	C ₉ H ₁₈ N ₂ O ₂	2.89	187.144 1	187.143 9	-1.28	[M+H] ⁺	86.096 7, 128.106 9, 145.133 2	+	+
22	5'-S-甲基-5'-硫代腺苷	C ₁₁ H ₁₅ N ₅ O ₃ S	2.94	298.096 8	298.096 2	-2.17	[M+H] ⁺	97.028 0, 136.061 6, 145.031 0	+	+
23	5-羟甲基糠醛	C ₆ H ₆ O ₃	2.99	127.039 0	127.039 1	0.08	[M+H] ⁺	81.034 0, 109.028 5	+	+
24	<i>D</i> -(+)-色氨酸	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	3.01	205.097 2	205.096 9	-1.36	[M+H] ⁺	118.065 2, 146.059 9, 188.070 2	+	+
25	色胺	C ₁₀ H ₁₂ N ₂	3.04	161.107 3	161.107 2	-1.10	[M+H] ⁺	117.070 5, 144.080 7	+	+
26	吡啶	C ₈ H ₇ N	3.08	118.065 1	118.065 2	0.94	[M+H] ⁺	91.054 3, 105.069 9, 117.057 3	+	+
27	京尼平	C ₁₁ H ₁₄ O ₅	3.19	227.091 4	227.090 9	-0.46	[M+H] ⁺	121.064 3, 149.059 5, 177.054 8	+	+
28	2,4,6-三羟基苯乙酮	C ₈ H ₈ O ₄	3.22	167.035 0	167.034 3	-3.91	[M-H] ⁻	95.013 9, 123.044 1, 149.023 5	+	+
29	3-乙酰吡啶	C ₇ H ₇ NO	3.41	122.060 0	122.060 2	0.98	[M+H] ⁺	96.044 7, 104.049 5, 122.060 0	+	+
30	京尼平苷酸	C ₁₆ H ₂₂ O ₁₀	3.45	373.114 0	373.114 5	1.33	[M-H] ⁻	149.060 0, 211.060 9	+	+
31	梔子新苷	C ₁₆ H ₂₂ O ₁₀	3.46	373.114 0	373.114 7	1.77	[M-H] ⁻	149.059 9, 167.070 5, 211.060 7	+	+
32	儿茶酚	C ₆ H ₆ O ₂	3.47	109.029 5	109.028 5	-9.46	[M-H] ⁻	81.033 3, 91.017 6, 108.020 6	+	+
33	犬尿喹啉酸	C ₁₀ H ₇ NO ₃	3.56	190.049 9	190.049 6	-1.38	[M+H] ⁺	116.051 1, 144.043 8, 162.054 6	+	+
34	6-甲基喹啉	C ₁₀ H ₉ N	3.67	144.080 8	144.080 7	-0.73	[M+H] ⁺	74.024 2, 130.065 5	-	+
35	玉叶金花苷酸	C ₁₆ H ₂₄ O ₁₀	3.69	375.129 7	375.130 5	2.09	[M-H] ⁻	107.049 2, 151.075 6, 213.076 4	+	+
36	<i>N</i> -乙酰- <i>L</i> -酪氨酸	C ₁₁ H ₁₃ NO ₄	3.82	222.077 2	222.077 2	-0.10	[M-H] ⁻	107.049 2, 163.039 8, 180.065 9	-	+
37	地黄新苷 D	C ₂₃ H ₃₁ NO ₁₁	3.85	498.197 0	498.196 0	-1.01	[M+H] ⁺	151.075 4, 168.065 1, 318.132 8	+	+
38	表儿茶素	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	3.92	291.086 3	291.085 7	-2.30	[M+H] ⁺	123.044 0, 139.038 8, 207.063 9	+	+
39	龙胆酸	C ₇ H ₆ O ₄	4.13	153.019 3	153.018 6	-4.83	[M-H] ⁻	85.028 2, 109.028 4	+	+
40	4-氨基水杨酸	C ₇ H ₇ NO ₃	4.25	153.035 3	152.034 6	-4.77	[M-H] ⁻	66.033 7, 107.037 1, 108.044 6	+	+
41	黄豆黄苷	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	4.35	447.128 6	447.127 6	-2.15	[M+H] ⁺	270.051 9, 285.075 3	+	+
42	大豆苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₉	4.56	417.118 0	417.117 0	-2.34	[M+H] ⁺	137.023 9, 255.064 5	+	+
43	东莨菪内酯	C ₁₀ H ₈ O ₄	4.60	191.049 0	193.049 3	-1.30	[M+H] ⁺	133.028 2, 178.025 7	+	+
44	对羟基苯甲醛	C ₇ H ₆ O ₂	4.66	123.044 1	123.044 1	0.59	[M+H] ⁺	67.054 8, 95.049 4	+	+
45	没食子酸	C ₇ H ₆ O ₅	4.66	169.014 3	169.013 6	-3.90	[M-H] ⁻	108.020 6, 109.028 3	+	+
46	染料木素/芹菜素	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	4.71	169.045 6	269.046 0	1.72	[M-H] ⁻	169.065 2, 197.059 6, 224.045 9	+	+
47	木犀草苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	4.79	447.093 3	447.094 2	2.05	[M-H] ⁻	255.029 6, 285.040 7	+	+
48	吡啶-3-乙酰- <i>L</i> -天冬氨酸	C ₁₄ H ₁₄ N ₂ O ₅	4.88	289.083 0	289.083 5	1.71	[M-H] ⁻	146.059 5, 173.070 2, 245.093 1	-	+
49	反式-3-吡啶丙烯酸	C ₁₁ H ₉ NO ₂	5.03	188.070 6	188.070 3	-1.58	[M+H] ⁺	118.065 3, 146.059 8, 170.059 6	+	+
50	6-羟基己酸	C ₆ H ₁₂ O ₃	5.08	131.071 4	131.070 3	-8.00	[M-H] ⁻	85.064 8, 113.059 4, 129.054 6	+	+
51	<i>N</i> -乙酰- <i>L</i> -亮氨酸	C ₈ H ₁₅ NO ₃	5.10	174.112 5	174.112 2	-1.32	[M+H] ⁺	86.096 8, 132.101 8	+	+
				172.097 9	172.097 4	-3.25	[M-H] ⁻	131.089 5, 130.086 4, 128.108 6	+	+
52	染料木苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	5.19	433.112 9	433.111 9	-2.43	[M+H] ⁺	153.018 1, 271.059 6	+	+
53	十二烷二酸	C ₁₂ H ₂₂ O ₄	5.22	229.144 5	229.144 7	0.50	[M-H] ⁻	167.143 7	+	+
54	吡啶-3-乙酸	C ₁₀ H ₉ NO ₂	5.26	174.056 1	174.055 5	-3.00	[M-H] ⁻	130.065 2, 144.044 7, 146.060 1	+	+
55	香叶木素	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	5.53	301.070 7	301.069 9	-2.56	[M+H] ⁺	258.051 3, 286.046 4	-	+
56	异阿魏酸	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	5.55	195.065 2	195.064 8	-1.78	[M+H] ⁺	145.028 2, 149.059 3, 177.054 2	+	+
57	壬二酸	C ₉ H ₁₆ O ₄	5.93	187.097 6	187.097 1	-2.53	[M-H] ⁻	97.064 9, 123.084 5, 125.096 3	+	+
58	木犀草素	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	5.96	285.040 5	285.040 9	1.39	[M-H] ⁻	133.028 9, 151.002 5, 175.039 1, 199.040 5, 241.049 2	-	+

表 1 (续)

序号	化合物	分子式	t _R /min	理论值 (m/z)	实测值 (m/z)	误差 (×10 ⁻⁶)	离子模式	离子碎片 (m/z)	配伍	同打
59	柚皮素	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	6.01	271.061 2	271.061 7	1.70	[M-H] ⁻	147.044 0, 153.018 1, 189.052 8	+	+
60	2-氨基-1,3,4-十八烷 三醇	C ₁₈ H ₃₉ NO ₃	6.05	318.300 3	318.299 6	-2.22	[M+H] ⁺	256.262 7, 300.291 5	-	+
61	鹰嘴豆芽素 A	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	6.09	285.075 8	285.075 1	-2.36	[M+H] ⁺	229.084 7, 270.051 6	-	+
62	大豆苷元	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	6.12	255.065 2	255.064 5	-2.56	[M+H] ⁺	137.023 1, 153.069 1, 199.074 9	+	+
63	焦地黄素 E	C ₁₁ H ₂₀ O ₅	6.16	231.123 8	231.123 8	1.09	[M-H] ⁻	87.007 6, 171.101 6, 213.112 4	+	+
64	N,N'-二环己基脒	C ₁₃ H ₂₄ N ₂ O	6.29	225.196 1	225.195 7	-2.16	[M+H] ⁺	83.085 9, 100.112 0, 143.117 9	+	+
65	(R)-3-羟基肉豆蔻酸	C ₁₄ H ₂₈ O ₃	6.44	243.196 6	243.196 7	0.56	[M-H] ⁻	57.034 1, 59.012 8	-	+
66	16-羟基十六烷酸	C ₁₆ H ₃₂ O ₃	6.80	271.227 9	271.228 5	2.34	[M-H] ⁻	225.222 1, 253.219 0	+	+

+表示被检测到, -表示未被检测到。
+-stands for detected; -- stands for not detected.

乙酰-*L*-酪氨酸(36)、香叶木素(55)、木犀草素(58)、2-氨基十八烷-1,3,4-三醇(60)、鹰嘴豆芽素 A(61)、(R)-3-羟基肉豆蔻酸(65), 提示淡豆豉鲜生地同打后可能通过这些成分发挥药效作用。

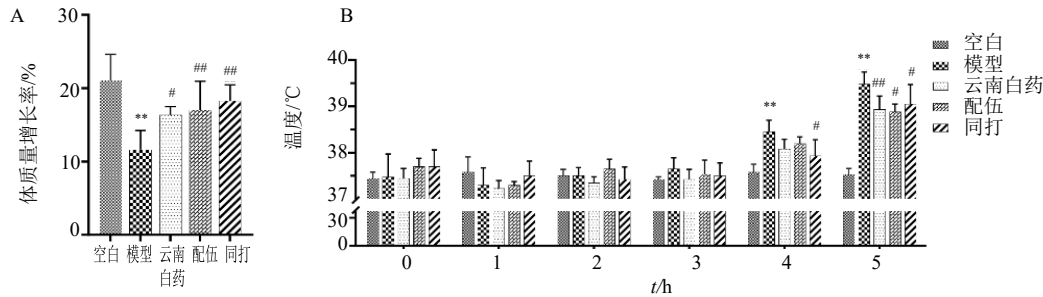
3.2 清热凉血作用评价

3.2.1 各组大鼠肛温变化 如图 1 所示, 与空白组相比, 模型组大鼠造模后体质量增长率显著下降 ($P<0.01$), 4、5 h 肛温显著增高 ($P<0.01$), 表明血热模型造模成功。给药后干预后, 配伍、同打及阳性药组大鼠体质量增长率显著回调 ($P<0.05$ 、 0.01), 表明大鼠状态缓和。与模型组相比, 同打组大鼠 4、5 h 肛温均显著降低 ($P<0.05$), 配伍组及阳性药组大鼠在造模后 5 h 肛温显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01), 提示同打组发挥解热作用速度更快且效果较好。

3.2.2 各组大鼠血液流变学及凝血四项变化 如图 2 所示, 与空白组相比, 模型组大鼠 4 种切变率下的全血黏度均显著增高 ($P<0.01$), PT 显著缩短 ($P<0.01$)、APTT 显著延长 ($P<0.01$), 提示出血模

型复制成功。与模型组相比, 同打组可显著降低模型大鼠各切变率下的全血黏度 ($P<0.05$ 、 0.01), 配伍组可显著降低模型大鼠 200 s⁻¹ 和 30 s⁻¹ 切变率下的全血黏度 ($P<0.01$ 、 0.05)。配伍组及同打组均可显著延长 PT ($P<0.05$), 并显著缩短 APTT ($P<0.01$)。除模型组 FIB 比空白组显著增加 ($P<0.01$) 以外, TT、FIB 其余各组之间无显著性差异, 但值得注意的是, 与配伍组相比, 同打组可显著降低模型大鼠 200 s⁻¹ 和 30 s⁻¹ 切变率下的全血黏度 ($P<0.05$), 提示淡豆豉鲜生地同打后清热凉血作用更佳, 且其发挥凉血作用可能与内源性凝血途径和外源性凝血途径有关。

3.2.3 各成分与药效指标的相关性分析结果 采用 Spearman 相关分析, 检验了淡豆豉鲜生地同打组及配伍组溶液中 66 种化学成分与不同时间点肛温、全血黏度及凝血四项等药效指标的相关性, 检验结果见图 3。结果显示, 各成分响应与各项药效指标之间存在相关性, 部分成分与药效呈正相关, 大部分成分则与药效呈负相关。其中, 低、中、高切变率下



与空白组比较: ** $P<0.01$; 与模型组比较: # $P<0.05$ ## $P<0.01$, 图 2 同。

** $P<0.01$ vs blank group; # $P<0.05$ ## $P<0.01$ vs model group, same as Fig. 2.

图 1 鲜生地淡豆豉同打炮制品对血热出血模型体质量增长率 (A) 和肛温 (B) 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig. 1 Effects of fresh *Rehmanniae Radix* processed with *Sojae Semen Praeparatum* on changes in body mass growth rate (A) and anal temperature (B) of blood-heat model ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

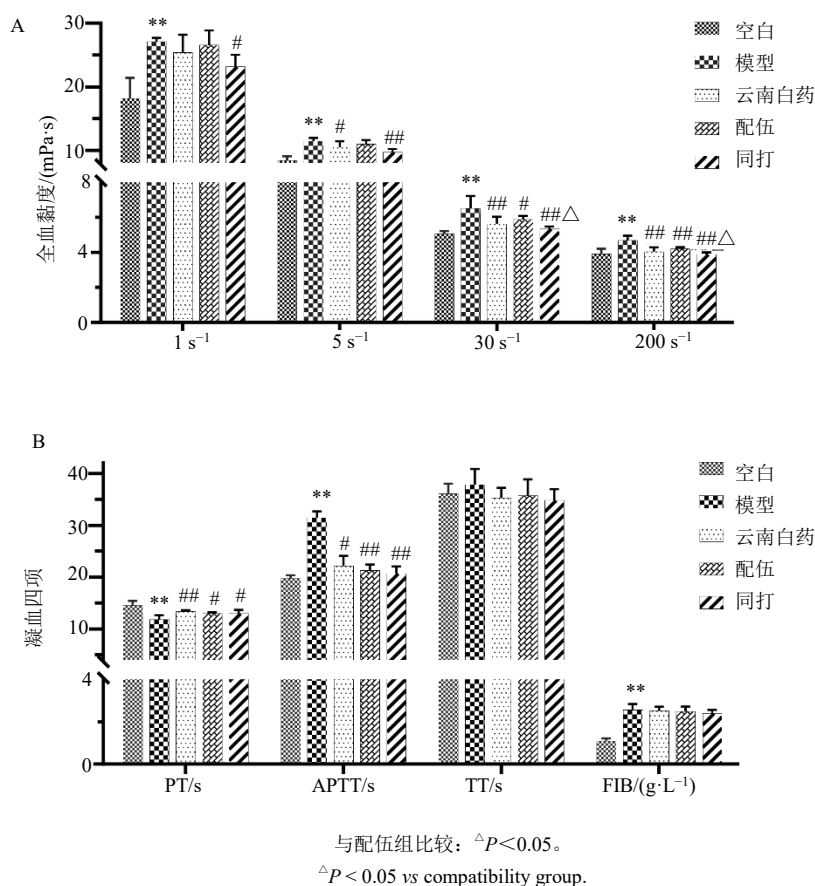


图 2 鲜生地淡豆豉同打炮制品对血热出血模型不同切变率下全血黏度 (A) 和凝血四项 (B) 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
 Fig. 2 Effects of fresh *Rehmanniae Radix* processed with *Sojse Semen Praeparatum* on changes in whole blood viscosity at different shear rates (A) and four coagulation parameters (B) of blood-heat model ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

的全血黏度与大部分成分响应变化显著相关, 仅存在于同打组水煎液中的 9 个成分均与全血黏度呈负相关, 并具有显著性, 在图中加粗表示。

3.2.4 肺和胃组织病理学 HE 染色 如图 4-A 所示, 空白组大鼠肺泡结构未见明显异常; 模型组大鼠可见广泛肺泡壁增厚, 肺泡腔结构不清, 局部肺泡壁和肺泡腔内可见大量炎性细胞浸润, 支气管周围可见大量炎性细胞浸润, 毛细血管广泛出血。给药干预后, 炎症细胞浸润、毛细血管出血等病理变化显著改善, 其中同打组改善效果较为明显。

如图 4-B 所示, 空白组大鼠镜下可见胃固有层和粘膜肌层, 固有层细胞染色加深, 肌层结构完整未见明显异常。模型组镜下可见上皮层胃小凹大量被破坏, 粘膜层和粘膜肌层层次不清, 炎症细胞浸润显著, 出血较甚。给药干预后, 炎症细胞浸润、固有层出血等病理变化显著改善, 其中同打组改善效果较明显。

3.3 代谢组学分析

3.3.1 血浆、尿液样品代谢轮廓的建立及多变量数

据分析 将正、负离子模式下采集到的各组血浆、尿液样本及 QC 样本的质谱数据经 Marker-View™ 预处理后, 导入 SIMCA-P 首先进行 PCA 分析。如图 5 所示, 空白组与模型组样本点在正负离子模式下均完全分离, 提示血热模型构建成功, 干酵母结合无水乙醇改变了大鼠体内的血浆及尿液的代谢轮廓。如图 6 所示, 在血浆中 R^2_X 在正负离子模式下分别为 0.636 和 0.760, Q^2 分别为 0.458 和 0.493; 尿液中 R^2_X 在正负离子模式下分别为 0.788 和 0.809, Q^2 分别为 0.701 和 0.762, QC 样本紧密聚集, 证明仪器稳定, 重复性良好, 所得数据结果可信。鲜生地淡豆豉配伍组及同打组血浆样品在 PCA 得分图中均与模型组分离; 尿液样品在 PCA 得分图中均与模型组显著分离, 且不同程度趋近于空白组, 结果表明各给药组对血热证均有不同程度的治疗作用。

3.3.2 与血热证相关潜在生物标志物的筛选 对采集的空白组及模型组大鼠血浆及尿液数据构建 OPLS-DA 模型, 如图 7 所示, 在正负离子模式下样

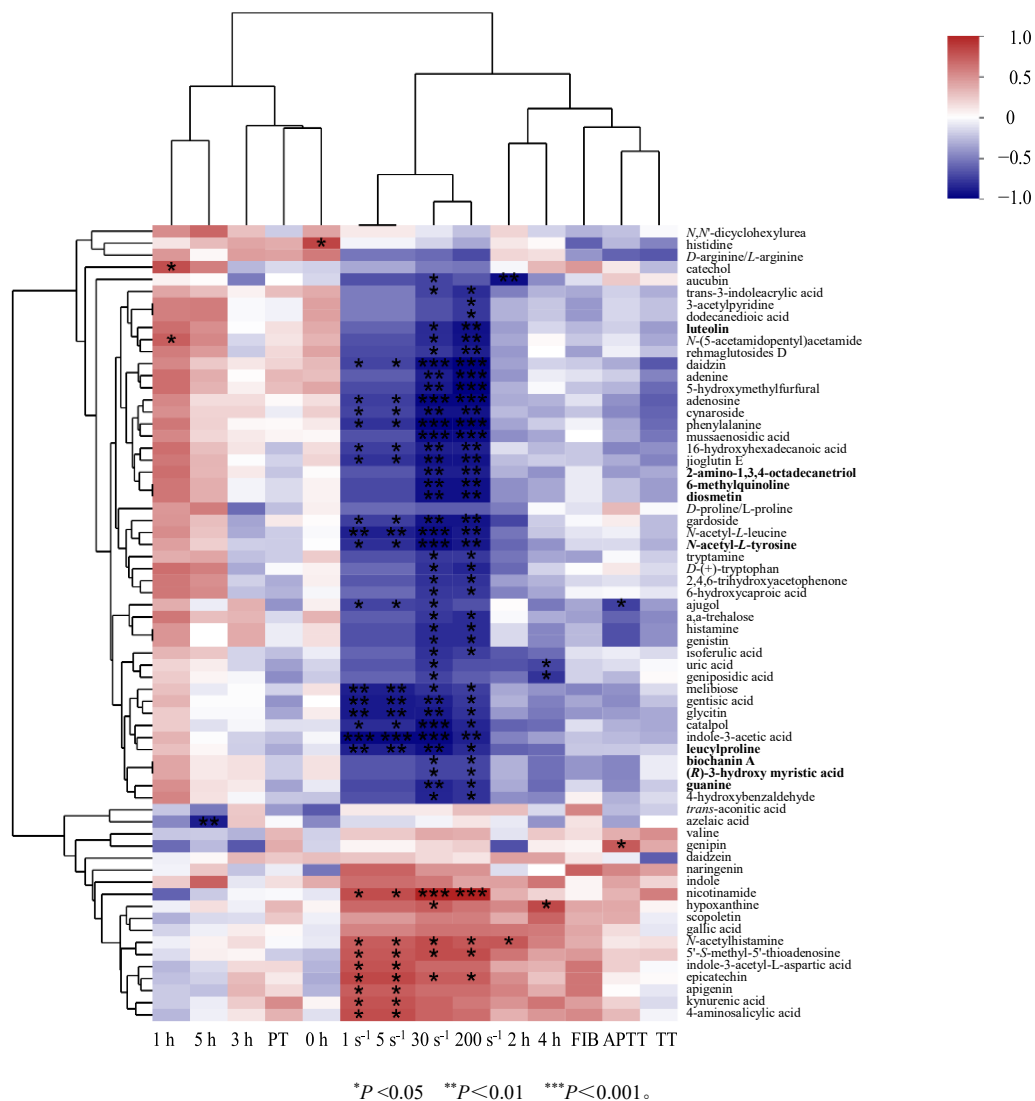


图 3 各样品中的化学成分与各项药效指标的相关性热图

Fig. 3 Heatmap of correlations between chemical components in water decoction and pharmacological efficacy indicators

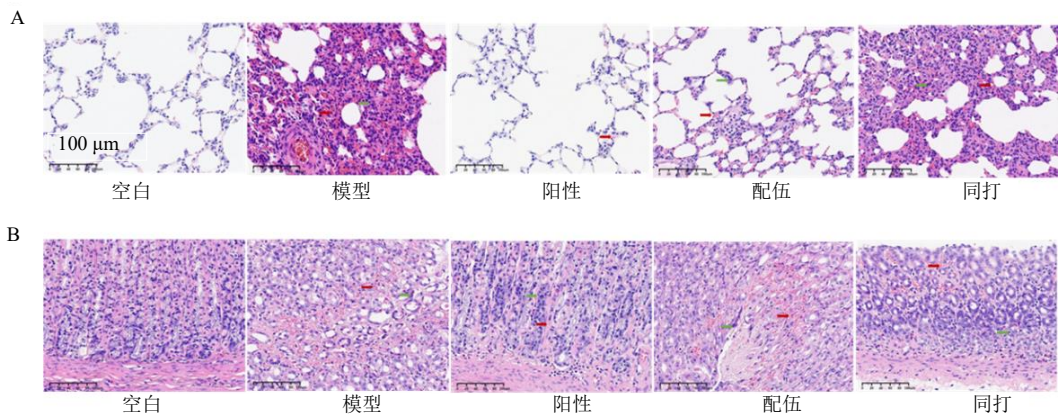
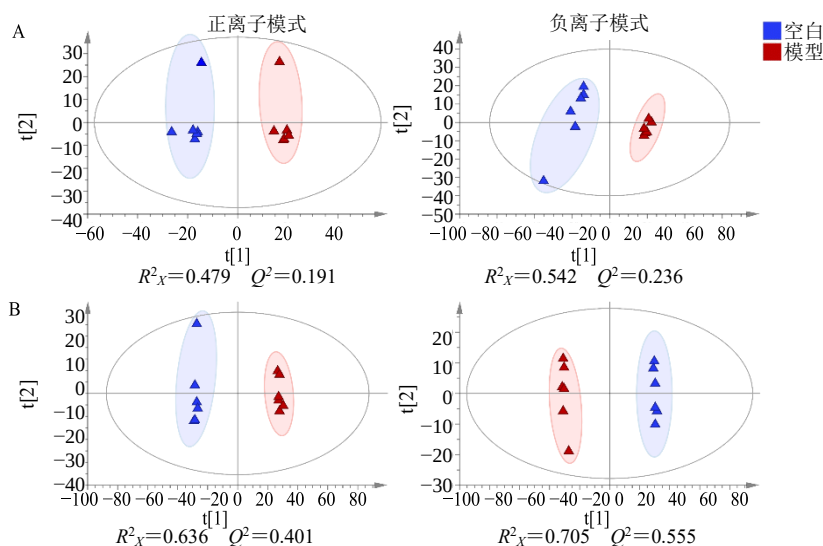
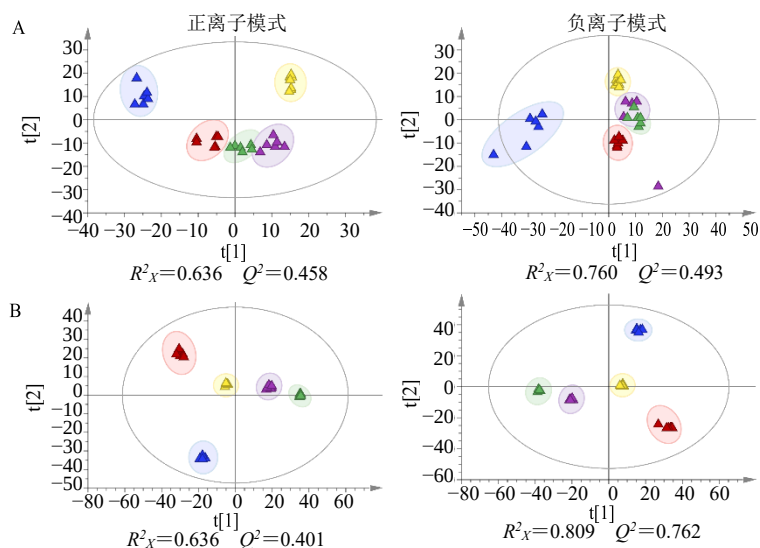


图 4 鲜生地淡豆豉同打炮制品对血热出血模型肺组织 (A) 和胃组织 (B) 病理形态的影响 (n = 3, ×200)

Fig. 4 Effects of fresh *Rehmanniae Radix* processed with *Sojae Semen Praeparatum* on histopathological changes in lung (A) and stomach (B) of blood-heat model (n = 3, ×200)

图 5 空白组和模型组大鼠血浆样品 (A) 和尿液样本 (B) 的 PCA 得分图 ($n = 6$)Fig. 5 PCA scores plots of plasma samples (A) and urine samples (B) from rats in blank and model groups ($n = 6$)图 6 各组大鼠血浆样品 (A) 和尿液样本 (B) 的 PCA 得分图 ($n = 6$)Fig. 6 PCA scores plots of plasma samples (A) and urine samples (B) from rats in each groups ($n = 6$)

本点均显著分离。对模型进行 200 次置换检验，血浆中 R^2_Y 在正负离子模式下分别为 0.741 和 0.666， Q^2 分别为 -0.460 和 -0.473；尿液中 R^2_Y 在正负离子模式下分别为 0.784 和 0.866， Q^2 分别为 -0.435 和 -0.380，表明模型无过度拟合，解释能力较好，数据分析可靠。以 $VIP > 1$ 和 $P < 0.05$ 为标准筛选潜在的差异内源性代谢物，通过 HMDB 数据库及 PeakView™ 软件匹配，并结合文献，最终筛选出源于血浆及尿液的差异代谢物 55 个，见表 2，37 个来源于血浆，19 个来源于尿液，其中柠檬酸在血浆及尿液的负离子模式下均被检测到，但在血浆中的响应更佳。

3.3.3 各给药组对血热证潜在生物标志物的回调作用 给经药干预后，能够显著回调包括 10 种溶血性磷脂酰胆碱、3 种鞘脂、3 种氨基酸代谢物及 1 种磷脂酰胆碱等在内的共 26 种差异代谢物。如图 8 所示，相较于配伍组，鲜生地淡豆豉同打组能回调的差异代谢物更多，且对差异代谢物 4-乙基苯酚硫酸单酯、鞘氨醇-1-磷酸、LysoPC (16 : 1/0 : 0)、LysoPC (18 : 1/0 : 0)、 α -亚麻酸、LysoPC (20 : 1/0 : 0)、LysoPC (18 : 0/0 : 0)、LysoPC (22 : 0/0 : 0)、1-*O*-十六烷基-2-溶血-*sn*-甘油-3-磷酸胆碱、*N*-乙酰神经氨酸-9-磷酸、5-羟基色氨酸、5-甲硫腺苷、亮氨

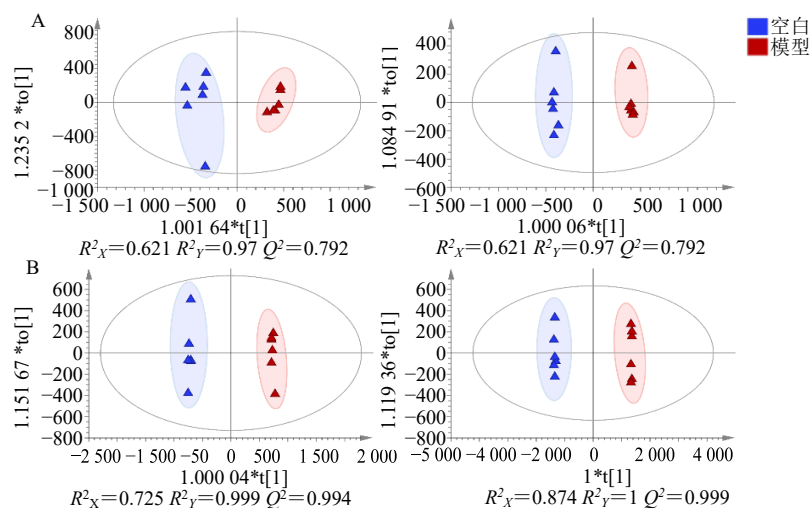


图 7 空白组和模型组大鼠血浆样品 (A) 和尿液样本 (B) 的 OPLS-DA 得分图 ($n = 6$)

Fig. 7 OPLS-DA scores plots of plasma samples (A) and urine samples (B) from rats in blank and model groups ($n = 6$)

酰亮氨酸、犬尿喹啉酸及 4-吡哆酸的回调作用显著提高 ($P < 0.05, 0.01$), 提示同打组能够更好回调血热所致的体内代谢紊乱。

3.3.4 代谢通路分析 将与血热证相关的潜在生物标志物导入 MetaboAnalyst 进行代谢通路分析, 选择 $\text{Impact} > 0.1$ 的代谢通路作为潜在的相关代谢通路, 共筛选出 8 条与血热证发病机制相关的代谢通路, 见图 9, 包括亚油酸代谢、花生四烯酸代谢、 α -亚麻酸代谢、鞘脂代谢、三羧酸循环、类固醇激素生物合成、色氨酸代谢、戊糖及葡萄糖醛酸转换。进一步分别导入鲜生地淡豆豉配伍组及同打组干预后可回调的差异代谢物, 得到不同药物组对上述血热证干预的代谢通路的调控结果, 如图 10 所示, 配伍组及同打组分别可回调 3 条及 5 条代谢通路, 与配伍组相较, 同打组可能通过调节鞘脂代谢和色氨酸代谢以增强清热凉血效果。

4 讨论

课题组前期基于医案中鲜生地淡豆豉两味同打的比例进行分析, 其同打比例 (鲜生地 g/淡豆豉 g) 主要集中于 24:9、12:9、9:9。为了探究不同比例鲜生地淡豆豉同打炮制品的清热凉血功效, 建立了血热出血大鼠模型, 选取肛温、全血黏度为考察指标, 评价不同比例鲜生地淡豆豉同打炮制品的凉血止血药效作用。结果表明, 同打比例为 12:9 的鲜生地淡豆豉同打炮制品对血热出血模型大鼠具有较好的清热作用, 且能显著降低血热出血模型大鼠各切变率下的全血黏度, 其清热凉血作用最佳。因此课题组选取用药剂量比 (鲜生地-淡豆豉 12

g:9 g) 作为后续实验的比例。在鲜生地淡豆豉两味同打炮制工艺优化的过程中, 采用单因素结合正交试验, 以淡豆豉粉碎目数、打制后放置时间及打制后放置温度为考察因素, 以梓醇、地黄苷 D、益母草苷、大豆苷元及染料木素含量的综合评分为评价指标, 筛选出最佳炮制工艺为: 淡豆豉粉碎后过 120 目筛, 加入鲜地黄同打碎至均匀 (每 12 克鲜地黄, 加入 9 g 淡豆豉), 于 25 °C 下放置 5 h, 即得鲜生地淡豆豉同打炮制品。

同打组水煎液中含有 9 个未在配伍组中检测到的成分, 可能是由于同打操作能够增加成分的溶出, 同时在同打过程中, 部分成分可能在鲜生地淡豆豉结合时得以保存, 此外, 同打可能让成分之间相互影响, 并在后续实验过程中发生转变。仅存在于同打组水煎液中的 9 个成分中, 亮氨酰脯氨酸是由 L-亮氨酸和 L-脯氨酸残基形成的二肽, 属于生物活性短肽, 是一种典型的血管紧张素转换酶抑制剂, 可以调节血压^[16-17]。N-乙酰-L-酪氨酸作为酪氨酸的侧链反应产物, 可以转化为酪氨酸, 随后用于神经递质的合成^[18], 现代研究发现其通常出现在耐受高温的昆虫体内^[19]。香叶木素和木犀草素均为天然黄酮类化合物, 具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤、心血管保护及神经保护等活性, 可以阻断 NF- κ B 和 MAPK 等信号通路, 减少 TNF- α 、IL-6 等炎症因子的释放从而发挥抗炎的作用^[20-23]。现代研究表明香叶木素可能作为活性成分改善脓毒症引起的相关炎症反应^[24], 但目前仍缺乏验证。此外, 香叶木素表现出抗血小板活性^[25]。木犀草素在急性细菌性肺炎相

表 2 血热模型大鼠血浆和尿液中潜在的生物标志物
Table 2 Potential biomarkers in plasma and urine of blood-heat model rats

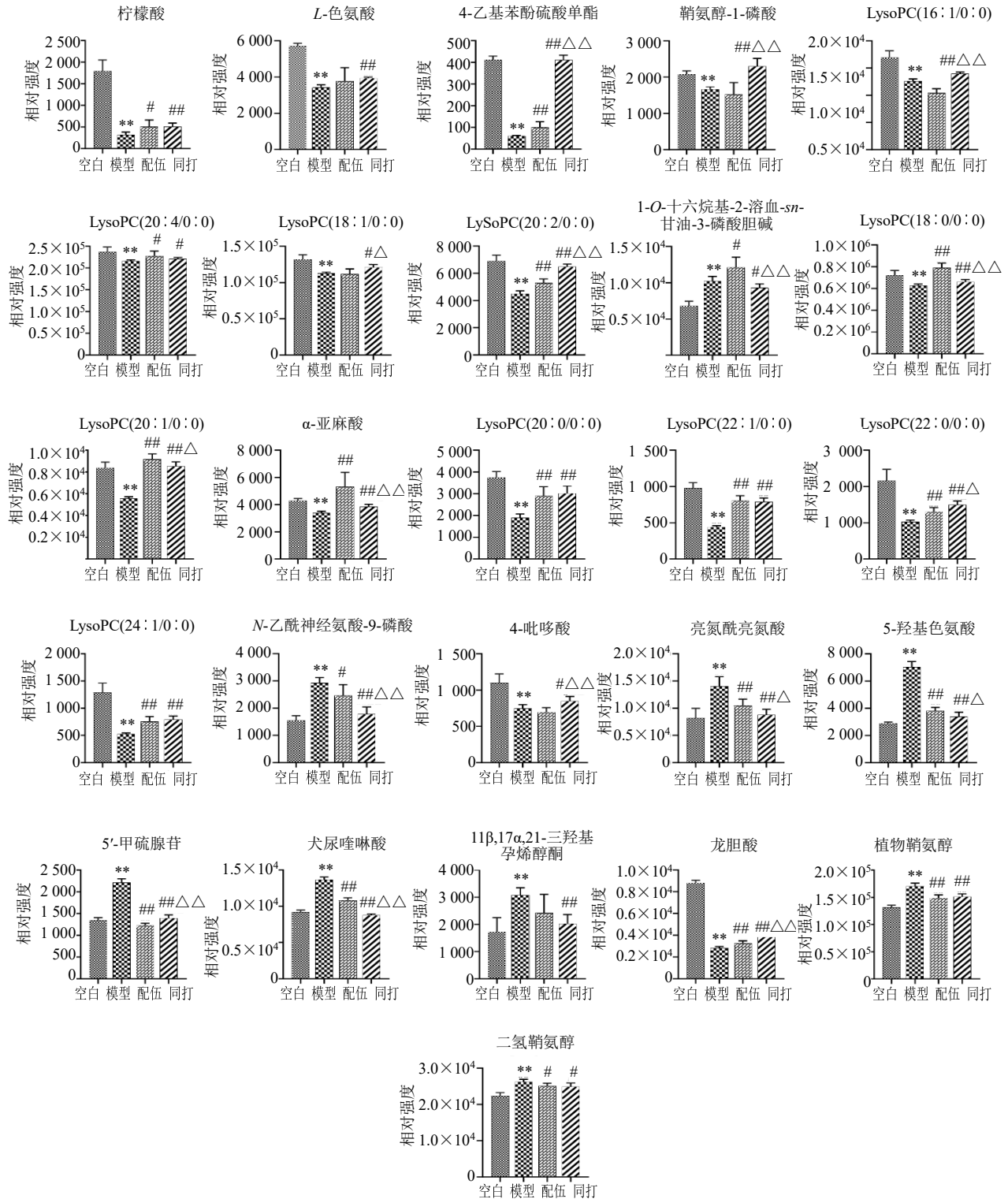
序号	化合物	分子式	t _R /min	离子 模式	m/z		误差 (×10 ⁻⁶)	离子碎片	匹配率/ %	来源	趋势
					理论值	实际值					
1	柠檬酸	C ₆ H ₈ O ₇	1.13	[M-H] ⁻	191.019 7	191.019 7	-0.3	67.018 9, 85.030 7, 87.009 2, 111.008 0, 191.018 0	98.3	P, U	↓
2	L-色氨酸	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	3.12	[M-H] ⁻	203.082 6	203.082 8	1.0	74.024 5, 116.050 6, 142.065 8, 159.092 2, 203.081 7	100.0	P	↓
3	硫酸吡啶酯	C ₈ H ₇ NO ₄ S	4.18	[M-H] ⁻	212.002 3	212.002 4	0.5	77.038 5, 79.955 9, 80.963 7, 132.047 0, 212.002 0	91.1	P	↓
4	4-乙基苯酚硫酸单酯	C ₈ H ₁₀ O ₄ S	7.21	[M-H] ⁻	201.022 7	201.022 7	0.1	79.956 4, 106.043 5, 121.066 1, 139.112 1, 201.021 7	92.2	P	↓
5	硫代石胆酰甘氨酸	C ₂₆ H ₄₃ NO ₇ S	7.74	[M-H] ⁻	512.268 8	512.269 2	0.9	512.266 9	100.0	P	↑
6	甘氨酸	C ₂₆ H ₄₃ NO ₆	8.77	[M-H] ⁻	464.301 8	464.301 9	0.2	402.304 4, 464.303 8	88.9	P	↓
7	牛磺胆酸	C ₂₆ H ₄₅ NO ₇ S	8.82	[M-H] ⁻	514.284 4	514.284 8	0.9	514.285 1	100.0	P	↑
8	甘氨酸氧胆酸	C ₂₆ H ₄₃ NO ₅	10.40	[M-H] ⁻	448.306 9	448.307 2	0.8	74.023 2, 402.295 9, 404.317 7, 448.306 0, 448.354 8	100.0	P	↓
9	鞘氨醇-1-磷酸	C ₁₈ H ₃₈ NO ₅ P	11.20	[M-H] ⁻	378.241 5	378.241 8	0.8	62.965 0, 78.958 3, 96.971 4, 378.237 4	100.0	P	↓
10	LysoPC (20 : 5/0 : 0)	C ₂₈ H ₄₈ NO ₇ P	11.40	[M+H] ⁺	542.324 1	542.324 7	1.0	86.094 9, 104.106 5, 124.999 8, 184.073 1, 542.326 0	100.0	P	↑
11	LysoPC (16 : 1/0 : 0)	C ₂₄ H ₄₀ NO ₇ P	11.60	[M+H] ⁺	494.324 1	494.324 6	0.9	86.096 5, 104.107 1, 124.999 8, 184.074 3, 494.324 7	100.0	P	↓
12	鹅脱氧胆酸	C ₂₄ H ₄₀ O ₄	11.80	[M-H] ⁻	391.285 4	391.285 5	0.4	327.263 6, 343.266 8, 345.280 2, 347.291 4, 391.284 1	100.0	P	↓
13	LysoPC (20 : 4/0 : 0)	C ₂₈ H ₅₀ NO ₇ P	12.40	[M+H] ⁺	544.339 8	544.340 3	0.9	86.096 0, 104.106 4, 184.073 1, 184.319 7, 544.335 6	97.6	P	↓
14	LysoPC (16 : 0/0 : 0)	C ₂₄ H ₅₀ NO ₇ P	13.10	[M+H] ⁺	496.339 8	496.340 7	1.9	86.096 6, 104.107 4, 124.999 7, 184.073 5, 496.340 1	91.3	P	↓
15	LysoPC (18 : 1/0 : 0)	C ₂₆ H ₅₂ NO ₇ P	13.60	[M+H] ⁺	522.355 4	522.355 9	1.0	86.097 9, 104.108 3, 184.075 5, 504.347 3, 522.357 9	100.0	P	↓
16	LysoPC (20 : 2/0 : 0)	C ₂₈ H ₅₄ NO ₇ P	14.00	[M+H] ⁺	548.371 1	548.371 6	0.9	86.096 5, 104.107 9, 184.074 2, 530.360 3, 548.372 7	100.0	P	↓
17	8,9-环氧二十碳三烯酸	C ₂₀ H ₃₂ O ₃	14.30	[M-H] ⁻	319.227 9	319.228 0	0.5	59.016 5, 179.105 9, 257.223 2, 301.217 4, 319.226 3	94.9	P	↑
18	1-O-十六烷基-2-溶血- sn-甘油-3-磷酸胆碱	C ₂₄ H ₅₂ NO ₆ P	15.10	[M+H] ⁺	482.360 5	482.360 8	0.6	86.095 2, 104.105 9, 124.998 8, 184.073 1, 482.360 9	100.0	P	↑
19	LysoPC (18 : 0/0 : 0)	C ₂₆ H ₅₄ NO ₇ P	15.30	[M+H] ⁺	524.371 1	524.371 7	1.2	86.096 6, 104.106 9, 184.073 6, 506.359 8, 524.370 9	93.2	P	↓
20	LysoPC (17 : 0/0 : 0)	C ₂₅ H ₅₂ NO ₇ P	15.30	[M-H] ⁻	508.340 9	508.341 3	0.8	224.068 5, 283.264 4, 508.341 3	100.0	P	↓
21	LysoPC (15 : 0/0 : 0)	C ₂₃ H ₄₈ NO ₇ P	15.40	[M-H] ⁻	480.309 6	480.309 7	0.2	224.068 4, 255.232 4, 480.309 5	100.0	P	↑
22	LysoPC (20 : 1(11Z)/0 : 0)	C ₂₈ H ₅₆ NO ₇ P	15.70	[M+H] ⁺	550.386 7	550.386 8	0.2	86.095 8, 104.107 3, 184.073 7, 532.379 1, 550.388 6	100.0	P	↓
23	PC (34 : 1)	C ₄₂ H ₈₂ NO ₈ P	15.90	[M+H] ⁺	760.585 1	760.584 6	-0.7	184.074 9, 185.074 8, 760.584 3	100.0	P	↑
24	α-亚麻酸	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	17.90	[M-H] ⁻	277.217 3	277.217 5	0.7	134.898 4, 277.217 9	100.0	P	↓
25	LysoPC (20 : 0/0 : 0)	C ₂₈ H ₅₈ NO ₇ P	18.30	[M+H] ⁺	552.402 4	552.402 3	-0.2	86.094 3, 104.107 2, 184.074 4, 534.395 1, 552.403 8	100.0	P	↓
26	LysoPC (22 : 1(13Z)/0 : 0)	C ₃₀ H ₆₀ NO ₇ P	18.70	[M+H] ⁺	578.418 0	578.418 4	0.7	86.092 5, 104.107 8, 184.070 8, 560.412 5, 578.418 7	100.0	P	↓
27	棕榈油酸	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	19.20	[M-H] ⁻	253.217 3	253.217 5	0.7	253.217 5	100.0	P	↓
28	花生四烯酸	C ₂₀ H ₃₂ O ₂	19.60	[M-H] ⁻	303.233 0	303.233 4	1.5	59.013 1, 205.194 6, 259.242 3, 285.222 0, 303.232 7	100.0	P	↑
29	亚油酸	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	19.90	[M-H] ⁻	279.2330	279.2333	1.0	279.232 7	100.0	P	↓

表 2 (续)

序号	化合物	分子式	t _R /min	离子 模式	m/z		误差 (×10 ⁻⁶)	离子碎片	匹配率/ %	来源	趋势
					理论值	实际值					
30	docosapentaenoic acid (22n-3)	C ₂₂ H ₃₄ O ₂	20.80	[M-H] ⁻	329.248 6	329.248 9	0.9	285.258 8, 311.241 3, 329.246 6	100.0	P	↓
31	棕榈酸	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	21.80	[M-H] ⁻	255.233 0	255.233 1	0.7	255.232 6	100.0	P	↓
32	LysoPC(22 : 0/0 : 0)	C ₃₀ H ₆₂ NO ₇ P	21.80	[M+H] ⁺	580.433 7	580.433 8	0.3	104.107 4, 125.001 9, 166.064 9, 184.072 5, 580.430 4	100.0	P	↑
33	油酸	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	22.20	[M-H] ⁻	281.248 6	281.248 9	0.9	281.248 5	100.0	P	↓
34	LysoPC(24 : 1(15Z)/0 : 0)	C ₃₂ H ₆₄ NO ₇ P	22.20	[M+H] ⁺	606.449 3	606.448 9	-0.7	104.105 2, 124.999 9, 184.073 1, 588.442 9, 606.449 4	100.0	P	↑
35	别孕烷醇酮	C ₂₁ H ₃₄ O ₂	23.80	[M+H] ⁺	319.263 2	319.263 8	1.9	79.052 4, 91.054 8, 107.086 4, 121.100 7, 319.264 4	99.2	P	↑
36	SM(d18 : 1/18 : 0)	C ₄₁ H ₈₃ N ₇ O ₆ P	28.60	[M+H] ⁺	731.606 2	731.605 9	-0.3	184.071 3, 185.083 1, 731.556 8	100.0	P	↑
37	SM(d18 : 1/24 : 1)	C ₄₇ H ₉₃ N ₇ O ₆ P	28.70	[M+H] ⁺	813.684 4	813.684 8	-0.2	86.098 6, 184.073 4, 185.076 8, 186.077 5, 813.634 7	100.0	P	↑
38	顺式乌头酸	C ₆ H ₆ O ₆	1.03	[M-H] ⁻	173.009 2	173.009 2	0.1	67.018 9, 85.029 4, 111.009 1, 129.019 5	100.0	U	↑
39	N-乙酰神经氨酸-9-磷酸	C ₁₁ H ₂₀ NO ₁₂ P	1.06	[M+H] ⁺	390.079 6	390.079 8	0.5	112.049 2, 201.088 2, 229.043 8, 372.072 6, 390.076 4	100.0	U	↑
40	4-吡哆酸	C ₈ H ₉ NO ₄	1.46	[M-H] ⁻	182.045 9	182.046 1	0.9	79.018 5, 92.050 8, 108.045 6, 120.045 8, 138.056 1	100.0	U	↓
41	亮氨酸亮氨酸	C ₁₂ H ₂₄ N ₂ O ₃	2.05	[M+H] ⁺	245.186 0	245.186 1	0.5	68.049 5, 84.081 0, 86.059 7, 86.095 6, 132.065 8	100.0	U	↑
42	5-羟基色氨酸	C ₅ H ₁₀ O ₃	2.09	[M-H] ⁻	117.055 7	117.055 6	-1.0	55.019 6, 57.036 2, 59.013 9, 71.050 7, 73.030 2	96.7	U	↑
43	5-甲硫腺苷	C ₁₁ H ₁₅ N ₅ O ₃ S	2.85	[M+H] ⁺	298.096 8	298.097 1	0.7	61.010 4, 119.033 8, 136.061 7, 193.104 3, 298.146 7	100.0	U	↑
44	黄尿酸	C ₁₀ H ₇ NO ₄	3.03	[M+H] ⁺	206.044 8	206.044 9	0.7	77.037 9, 104.049 0, 132.044 1, 160.038 9, 178.049 5	100.0	U	↑
45	犬尿喹啉酸	C ₁₀ H ₇ NO ₃	3.32	[M-H] ⁻	188.035 3	188.035 4	0.3	65.998 2, 144.045 4	100.0	U	↑
46	11β,17α,21-三羟基孕烯 醇酮	C ₂₁ H ₃₂ O ₅	4.66	[M+H] ⁺	365.232 3	365.232 6	0.9	131.086 4, 251.179 2, 311.200 5, 347.216 2, 365.229 9	89.6	U	↑
47	吡啶乳酸	C ₁₁ H ₁₁ NO ₃	5.84	[M+H] ⁺	206.081 2	206.081 3	0.6	51.022 9, 53.038 4, 77.038 2, 103.053 7, 131.049 2	100.0	U	↑
48	2-苯基乙醇葡萄糖醛 酸苷	C ₁₄ H ₁₈ O ₇	6.14	[M-H] ⁻	297.098 0	297.098 2	0.8	59.014 3, 71.014 5, 75.009 4, 85.030 0, 121.066 4	95.2	U	↓
49	龙胆酸	C ₇ H ₆ O ₄	6.36	[M-H] ⁻	153.019 3	153.019 5	0.8	65.040 3, 67.019 4, 91.020 5, 109.030 9, 135.008 4	100.0	U	↓
50	17α,21-二羟基孕烯醇酮	C ₂₁ H ₃₂ O ₄	7.62	[M+H] ⁺	349.237 3	349.238 0	1.7	145.101 1, 271.205 7, 289.217 1, 313.216 7, 331.225 5	97.5	U	↑
51	17-羟孕酮	C ₂₁ H ₃₀ O ₃	7.65	[M+H] ⁺	331.226 8	331.227 5	2.2	133.100 4, 171.115 2, 295.204 1, 313.216 8, 331.227 9	90.7	U	↑
52	皮质酮	C ₂₁ H ₃₄ O ₅	7.65	[M-H] ⁻	365.233 3	365.233 5	0.4	57.034 8, 233.191 8, 303.234 5, 347.223 6, 365.234 8	100.0	U	↑
53	皮质醇	C ₂₁ H ₃₀ O ₅	7.80	[M+H] ⁺	363.216 6	363.216 9	0.9	247.135 4, 261.149 5, 287.163 1, 345.207 5, 363.214 9	96.0	U	↑
54	植物鞘氨醇	C ₁₈ H ₃₉ NO ₃	8.83	[M+H] ⁺	318.300 3	318.300 9	2.1	70.065 2, 88.075 7, 102.091 2, 256.263 2, 318.299 8	90.3	U	↑
55	二氢鞘氨醇	C ₁₈ H ₃₉ NO ₂	9.95	[M+H] ⁺	302.305 4	302.305 7	1.0	57.069 0, 70.064 2, 88.074 7, 284.294 4, 302.305 1	100.0	U	↑

与空白组比较, 含量增加 (↑) 和减少 (↓); P-血浆, U-尿液。

The increased (↑) and decreased (↓) contents compared with the control group; P-plasma, U-urine.



与空白组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$; 与配伍组比较: △ $P < 0.05$ △△ $P < 0.01$ 。

** $P < 0.01$ vs blank group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group; △ $P < 0.05$ △△ $P < 0.01$ vs compatibility group.

图 8 各组大鼠血浆和尿液中潜在生物标志物的水平

Fig. 8 Levels of potential biomarkers in plasma and urine of rats in each group

关的体内外研究中均展现出良好的治疗作用^[26],并能缓解脓毒症诱导的急性肝损伤^[27]。其余成分存

在抗炎作用的报道,但参考资料较少,由此表明亮氨酸脯氨酸、*N*-乙酰-*L*-酪氨酸、香叶木素和木犀草

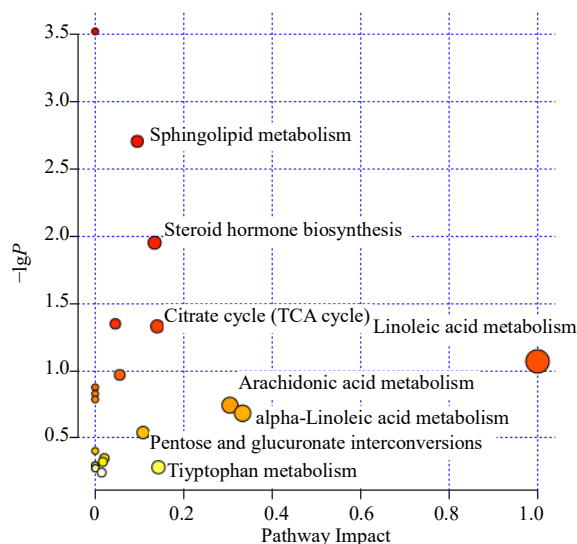


图 9 潜在生物标志物的通路分析

Fig. 9 Pathways analysis of potential biomarkers

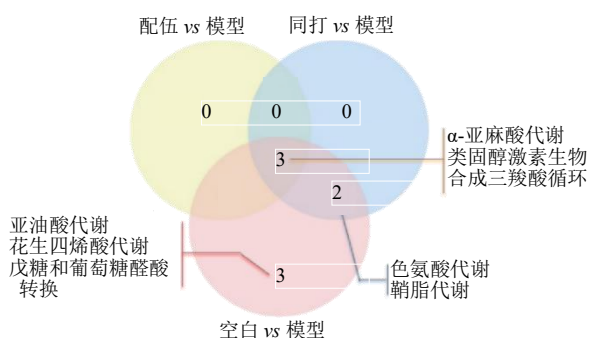


图 10 共同代谢通路分析

Fig. 10 Analysis of common metabolic pathways

素可能作为淡豆豉鲜生地同打的活性成分，通过发挥上述药理作用增强清热凉血的功效。

本实验表明，鲜生地淡豆豉同打组不仅对血热模型大鼠有更好的清热作用，且能显著降低血热模型大鼠各切变率下的全血黏度，回调 PT 和 APTT 从而发挥清热凉血作用，这表明鲜生地淡豆豉同打主要通过激活内源性凝血途径或外源性凝血途径而发挥凉血作用。根据水煎液成分与药效指标的相关性分析结果，包括同打组水煎液特有成分在内的大部分成分显示与全血黏度呈显著相关，表明同打组水煎液可能通过显著影响全血黏度来更好地发挥清热凉血的功效。

亚油酸作为不饱和脂肪酸的一种，是参与细胞膜结构和功能的基本成分，在许多生物过程中发挥关键作用，包括细胞凋亡、炎症反应、线粒体生物发生和胰岛素信号传导^[28]。当细胞受到外界刺激

后，细胞膜的磷脂酶被激活，在酶的作用下可转化生成花生四烯酸，花生四烯酸经环加氧酶和脂质加氧酶途径代谢，进一步生成前列腺素及白三烯等多种强效促炎介质，能够推动炎症过程，在炎症的调控及氧化应激方面能够发挥重要作用^[29-31]。 α -亚麻酸是细胞膜的重要组成部分，作为细胞信号转导的第二信使，通过直接或间接的机制调节一些基因的表达，从而减缓炎症反应、抑制血栓生成、抗心律失常，现代研究表明其对动脉粥样硬化等心血管疾病具有一定的改善作用^[32-33]。本实验中模型组大鼠体内的亚油酸及 α -亚麻酸含量显著降低、花生四烯酸含量升高，而在药物组干预后能够显著回调血中亚油酸及 α -亚麻酸水平，说明药物组可能通过调节 α -亚麻酸代谢通路更好发挥清热凉血作用。

脂质是生物膜的重要组成部分，具有信号转导和细胞调控的功能。脂质主要可分为鞘脂类、糖脂类、甘油酯类及甘油磷脂类等。鞘脂类物质，广泛分布于细胞膜，借助高密度脂蛋白发挥活血降血脂作用，鞘脂代谢通路异常可能影响多种细胞生理过程。植物鞘氨醇和二氢神经鞘氨醇均为鞘脂的代谢物，在血管生成、氧化应激及炎症反应方面具有重要作用^[34-36]。本研究结果显示，模型组大鼠血中植物鞘氨醇和二氢神经鞘氨醇水平显著升高，提示鞘脂代谢通路被激活，推动血热证的发生发展，而经给药干预后，配伍组及同打组血中植物鞘氨醇和二氢神经鞘氨醇含量均显著下降。鞘氨醇可以被鞘氨醇激酶磷酸化产生鞘氨醇-1-磷酸 (sphingosine-1-phosphate, S1P)，S1P 能够与血小板表面的受体结合，促使细胞膜糖蛋白改变、纤维蛋白原受体暴露，血小板反应性升高，进而刺激血小板聚集，相较于空白组大鼠，模型组大鼠体内 S1P 水平显著下降，但在给予同打组药物治疗后展现出明显的回调趋势，提示 S1P 开始发挥促凝止血作用，通路富集分析同样提示仅同打组药物能够通过干预鞘脂类代谢通路发挥药效。磷脂酰胆碱 (phosphatidylcholine, PC) 和溶血磷脂酰胆碱 (LysoPC) 作为磷脂的主要组成，同属于脂质代谢物，在细胞生长增殖、炎症反应和脂质氧化中都发挥重要作用。在炎症、氧化应激条件下，内皮脂肪酶被激活，进而促使 PC 转化生成 LysoPC，而 LysoPC 近年来被发现能够减轻炎症并促进血管内皮修复，与动脉粥样硬化等冠心病的发展进程相关^[37]。造模后，PC (34 : 1)、LysoPC (20 : 5/0 : 0)、LysoPC (16 : 1/0 : 0)、LysoPC (20 :

4/0:0)、LysoPC (16:0/0:0)、LysoPC (18:1/0:0)、LysoPC (20:2/0:0) 等水平均受到明显干扰,但经配伍组及同打组给药后,绝大多数磷脂类成分都得到了显著回调。

色氨酸是一种人体必需氨基酸,其降解产生对免疫调节有重要作用的生物活性衍生物,即色氨酸水平的降低与各种慢性炎症疾病系统的炎症活动有关^[38-39]。色氨酸在体内主要有 3 条代谢途径:一条是经色氨酸羟化酶作用形成 5-羟色氨酸,再经脱羧酶成为 5-羟色氨;另一条是经在吲哚胺 2,3-双加氧酶或色氨酸 2,3-双加氧酶的作用下生成犬尿氨酸,再经过多级酶促反应产生各种代谢产物,如犬尿酸等;最后一条是在微生物的作用下,通过脱羧或脱氨生成吲哚衍生物,如吲哚乙酸等。本研究模型组大鼠在造模后血中色氨酸水平显著下降,而其代谢物 5-羟色氨、犬尿氨及吲哚乙酸的水平均显著性升高,提示机体出现炎症反应,而给药组中仅同打组能显著回调上述差异代谢物水平,并在通路分析中同样显示出对色氨酸代谢通路的显著调节作用。目前研究发现色氨酸及其衍生物通过与芳基烃受体结合,在维持肠道稳态及调节肠道菌群方面的重要性^[40-41],同样提示可进一步从肠道菌群的角度探究鲜生地淡豆豉同打的作用机制。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 苗裕. 江苏温病流派学术思想及临床经验研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2010.
- [2] 张耀卿. 柳宝诒医案 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1965: 5.
- [3] 丁甘仁. 丁甘仁医案续编 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2001: 293.
- [4] 钱松祥. 中药炮制小灶操作方法 [J]. 时珍国医国药, 1999, 10(3): 48.
- [5] 蔡泓, 李军, 王君明, 等. “以药制药”炮制技术的历史沿革理论依据及其现代研究策略 [J]. 时珍国医国药, 2017, 28(11): 2703-2705.
- [6] 张存钧, 王松坡. 海派中医张氏内科 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2019: 115.
- [7] 侯婷婷, 彭健, 蔡华珠, 等. 基于《柳宝诒医案》浅探柳宝诒以药制药学术思想 [J]. 新中医, 2022, 54(4): 209-212.
- [8] 杨映映, 田传玺, 罗金丽, 等. 流行性出血热中医病因病机及诊治要点分析 [J]. 吉林中医药, 2024, 44(9): 993-997.
- [9] 王卫, 张明香, 颜迎春, 等. 论络病理论与流行性乙型

脑炎之营血证辨证论治刍议 [J]. 光明中医, 2014, 29(11): 2383-2384.

- [10] 王前, 徐晓花, 唐丽娟, 等. 基于脏腑和气血辨证理论探讨新型冠状病毒肺炎的肺外表现 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2021, 23(11): 4222-4229.
- [11] 陈锐. 张镜人外感热病治验 [J]. 中国社区医师, 2012, 28(27): 20.
- [12] 韩天雄, 邢斌. 餐芝轩医集: 颜氏三代医人耕耘录 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2009.
- [13] 陈奇. 中药药理研究方法学 [M]. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 1208.
- [14] 刘晨, 柳佳, 张丽, 等. 侧柏叶炮制前后对血热复合出血模型大鼠的止血作用比较 [J]. 中草药, 2014, 45(5): 668-672.
- [15] 祁晓鸣, 孟祥龙, 何美菁, 等. 生地黄制炭(炒炭、煅炭)前后凉血止血作用比较研究 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(5): 954-961.
- [16] Cai X S, Dai J C, Xie Y J, *et al.* Multi-omics study unravels gut microbiota and metabolites alteration in patients with Wilson's disease [J]. *Sci Rep*, 2024, 14(1): 21025.
- [17] Zheng Z J, Wei L Y, Zhu M L, *et al.* Effect of lactic acid bacteria co-fermentation on antioxidant activity and metabolomic profiles of a juice made from wolfberry and Longan [J]. *Food Res Int*, 2023, 174(Pt 1): 113547.
- [18] Li H C, Wang G D, Yan X M, *et al.* Effects of acetyl groups on the prebiotic properties of glucomannan extracted from *Artemisia sphaerocephala* Krasch seeds [J]. *Carbohydr Polym*, 2024, 330: 121805.
- [19] Hayakawa Y. N-acetyltyrosine-induced redox signaling in hormesis [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2021, 1868(6): 118990.
- [20] Li Z L, Liu M J, Li J, *et al.* Diosmetin alleviates AFB1-induced endoplasmic reticulum stress, autophagy, and apoptosis via PI3K/AKT pathway in mice [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2025, 292: 117997.
- [21] Yang J Y, Yang H, Wang F M, *et al.* Bioinformatics identification based on causal association inference using multi-omics reveals the underlying mechanism of Gui-Zhi-Shao-Yao-Zhi-Mu decoction in modulating rheumatoid arthritis [J]. *Phytomedicine*, 2025, 136: 156332.
- [22] Żurawek D, Pydyn N, Major P, *et al.* Diosmetin alleviates TNF α -induced liver inflammation by improving liver sinusoidal endothelial cell dysfunction [J]. *Biomed Pharmacother*, 2025, 183: 117843.
- [23] Lv J L, Song X Y, Luo Z X, *et al.* Luteolin: Exploring its therapeutic potential and molecular mechanisms in pulmonary diseases [J]. *Front Pharmacol*, 2025, 16:

- 1535555.
- [24] Cao X, Zhao M T, Wang X, *et al.* Multi-metabolomics and intestine microbiome analysis: YZC extract ameliorates septic-ALI by modulating intestine microbiota to reduce TMAO/NLRP3 signaling [J]. *Phytomedicine*, 2024, 130: 155345.
- [25] Zaragoza C, Monserrat J, Mantecón C, *et al.* Binding and antiplatelet activity of quercetin, rutin, diosmetin, and diosmin flavonoids [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 141: 111867.
- [26] Gu M D, Pang Z. Luteolin inhibits inflammation and M₁ macrophage polarization in the treatment of *Pseudomonas aeruginosa*-induced acute pneumonia through suppressing EGFR/PI3K/AKT/NF- κ B and EGFR/ERK/AP-1 signaling pathways [J]. *Phytomedicine*, 2025, 141: 156663.
- [27] Deng L Y, Yu Q L, Kuang G, *et al.* Luteolin modulates liver macrophage subtype polarization and play protective role in sepsis induced acute hepatic injury [J]. *Inflamm Res*, 2025, 74(1): 59.
- [28] Liu Y J, Li H, Tian Y, *et al.* PCTR1 ameliorates lipopolysaccharide-induced acute inflammation and multiple organ damage via regulation of linoleic acid metabolism by promoting FADS1/FASDS2/ELOV2 expression and reducing PLA2 expression [J]. *Lab Invest*, 2020, 100(7): 904-915.
- [29] Kikut J, Komorniak N, Ziętek M, *et al.* Inflammation with the participation of arachidonic (AA) and linoleic acid (LA) derivatives (HETEs and HODEs) is necessary in the course of a normal reproductive cycle and pregnancy [J]. *J Reprod Immunol*, 2020, 141: 103177.
- [30] Nava Lauson C B, Tiberti S, Corsetto P A, *et al.* Linoleic acid potentiates CD8⁺ T cell metabolic fitness and antitumor immunity [J]. *Cell Metab*, 2023, 35(4): 633-650.
- [31] den Hartigh L J. Conjugated linoleic acid effects on cancer, obesity, and atherosclerosis: A review of pre-clinical and human trials with current perspectives [J]. *Nutrients*, 2019, 11(2): 370.
- [32] Naghshi S, Aune D, Beyene J, *et al.* Dietary intake and biomarkers of alpha linolenic acid and risk of all cause, cardiovascular, and cancer mortality: Systematic review and dose-response meta-analysis of cohort studies [J]. *BMJ*, 2021, 375: n2213.
- [33] Bertoni C, Abodi M, D'Oria V, *et al.* Alpha-linolenic acid and cardiovascular events: A narrative review [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(18): 14319.
- [34] Bravo G Á, Cedeño R R, Casadevall M P, *et al.* Sphingosine-1-phosphate (S1P) and S1P signaling pathway modulators, from current insights to future perspectives [J]. *Cells*, 2022, 11(13): 2058.
- [35] Hannun Y A, Obeid L M. Sphingolipids and their metabolism in physiology and disease [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, 19(3): 175-191.
- [36] Sasset L, Di Lorenzo A. Sphingolipid metabolism and signaling in endothelial cell functions [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2022, 1372: 87-117.
- [37] Gonzalez-Freire M, Moaddel R, Sun K, *et al.* Targeted metabolomics shows low plasma lysophosphatidylcholine 18: 2 predicts greater decline of gait speed in older adults: The Baltimore longitudinal study of aging [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2019, 74(1): 62-67.
- [38] Cervenka I, Agudelo L Z, Ruas J L. Kynurenines: Tryptophan's metabolites in exercise, inflammation, and mental health [J]. *Science*, 2017, 357(6349): eaaf9794.
- [39] Harris D M M, Szymczak S, Schuchardt S, *et al.* Tryptophan degradation as a systems phenomenon in inflammation - an analysis across 13 chronic inflammatory diseases [J]. *EBioMedicine*, 2024, 102: 105056.
- [40] Liu G, Chen S, Zhong J, *et al.* Crosstalk between tryptophan metabolism and cardiovascular disease, mechanisms, and therapeutic implications [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 2017: 1602074.
- [41] Koopman N, Katsavelis D, Hove A S T, *et al.* The multifaceted role of serotonin in intestinal homeostasis [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(17): 9487.

[责任编辑 王文倩]