

中药赤芍炮制前后对寒凝气滞血瘀大鼠活血化瘀功效的比较研究



潘思文^{1, 2}, 匡海学¹

1. 黑龙江中医药大学教育部北药基础与应用研究重点实验室 (哈尔滨 150040)

2. 齐齐哈尔医学院病理学院 (黑龙江齐齐哈尔 161006)

【摘要】目的 研究野生品赤芍炮制前后以及赤芍皮对血瘀大鼠的散瘀作用。**方法** 将SD大鼠分为空白组、模型组及药物干预组(野生品赤芍水提液组、炮制品赤芍水提液组、赤芍皮水提液组)。模型组和药物干预组采用大鼠皮下注射盐酸肾上腺素和冰水浴联合方法制备寒凝气滞血瘀证大鼠模型。各给药组大鼠均以10.08 g/kg的剂量每日灌胃给药1次,连续15 d,给药体积为10 mL/kg并依体重调整,空白组与模型组灌胃等体积纯净水。观察各组大鼠一般体征,检测大鼠血小板聚集率、凝血功能和血液流变学,ELISA法检测血瘀相关因子的表达,HE染色法和电镜观察血管内皮结构。**结果** 造模后大鼠普遍出现扎堆、反应迟钝、舌面颜色加深,血液出现高凝状态(血小板聚集率、全血黏度升高及凝血时间缩短等)($P<0.05$),血清一氧化氮(NO)、大鼠6-酮前列腺素F1 α (6-keto-PGF1 α)和环磷酸腺苷(cAMP)含量降低,内皮素-1(ET-1)、血栓素B2(TXB2)、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)、血管细胞黏附分子-1(VCAM-1)、血管性血友病因子(vWF)、血小板 α 颗粒膜蛋白(GMP-140)、可溶性CD40配体(sCD40L)等升高($P<0.05$),血管内皮损伤严重;给予赤芍干预后,血瘀大鼠高凝状态和内皮功能得到显著改善,逆转相关血清因子,血管内皮损伤减轻,内皮细胞结构趋于正常。炮制品赤芍和赤芍皮对上述相关血液指标无显著作用($P>0.05$)。**结论** 赤芍可通过调节凝血、血小板活化程度以及内皮功能显著改善血瘀模型大鼠的生理及病理状态,达到散瘀作用,而炮制品赤芍和赤芍皮的上述效应显著减弱或消失,这提示炮制工艺可能削弱赤芍的传统散瘀功效,临床应用赤芍散瘀时宜选用生品。

【关键词】 赤芍;活血化瘀;寒凝气滞;血小板

【中图分类号】 R285.5

【文献标识码】 A

Comparative study on the effects of Radix Paeoniae Rubra before and after processing on promoting blood circulation and transforming stasis in rats with cold coagulation, qi stagnation, and blood stasis

PAN Siwen^{1,2}, KUANG Haixue¹

1. Key Laboratory of Basic and Applied Research on Northern Medicinal Plants, Ministry of Education, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202507026

基金项目: 国家中医药管理局中医药传承与创新“百千万”人才工程—岐黄工程首席科学家支持项目(国中医药人教函〔2021〕7号); 国家中医药管理局中医药传承与创新“百千万”人才工程(岐黄工程)岐黄学者支持项目(国中医药人教函〔2018〕284号); 2022年全国名老中医药专家传承工作室建设项目(国中医药人教函〔2022〕75号); 第七批全国老中医药专家学术经验继承工作项目(国中医药人教函〔2022〕76号); 黑龙江省“头雁”团队支持项目(黑龙江省头雁行动领导小组文件〔2019〕5号); 齐齐哈尔市科技计划联合引导项目(LSFGG-2023050)

通信作者: 匡海学, 博士, 教授, 博士研究生导师, Email: hxkuang@hlucm.edu.cn

2. College of Pathology, Qiqihar Medical University, Qiqihar 161006, Heilongjiang Province, China

Corresponding author: KUANG Haixue, Email: hxkuang@hliuicm.edu.cn

【Abstract】Objective To investigate the blood-stasis resolving effect of wild *Radix Paeoniae Rubra* (RPR) before and after processing, as well as RPR peel, on blood-stasis rats. **Methods** SD rats were divided into blank group, model group, and drug intervention groups (wild RPR water extract group, processed RPR water extract group, RPR peel water extract group). The model group and drug intervention groups were established by subcutaneous injection of adrenaline hydrochloride combined with ice-water bath to prepare rats with cold coagulation and qi stagnation blood-stasis syndrome. The rats in each group were administered 10.08 g/kg by gavage once a day for 15 consecutive days in a volume of 10 mL/kg and adjusted according to body weight, while the blank group and the model group were administered an equal volume of purified water. The general signs of rats in each group were observed. Platelet aggregation rate, coagulation function, and hemorheology were detected. The expression of blood-stasis related factors was measured by ELISA, and the vascular endothelial structure was observed by HE staining and electron microscopy. **Results** After modeling, rats commonly showed huddling, slow response, deepened tongue color, and hypercoagulable state (increased platelet aggregation rate, whole blood viscosity, shortened coagulation time, etc.) ($P<0.05$). Serum nitric oxide (NO), 6-keto-prostaglandin F1 α (6-keto-PGF1 α) in rats, and cyclic adenosine monophosphate (cAMP) levels were decreased, while endothelin-1 (ET-1), thromboxane B2 (TXB2), intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1), von Willebrand factor (vWF), platelet α -granule membrane protein (GMP-140), soluble CD40 ligand (sCD40L) and other indicators were increased ($P<0.05$), indicating severe vascular endothelial damage. After intervention with RPR, the hypercoagulable state and endothelial function of blood-stasis rats were significantly improved, related serum factors were reversed, vascular endothelial damage was alleviated, and endothelial cell structure tended to be normal. There was no significant effect of the processed RPR products and the peel, on the above relevant blood indicators ($P>0.05$). **Conclusion** Wild RPR can significantly improve the physiological and pathological status of blood-stasis model rats by regulating coagulation, platelet activation, and endothelial function, achieving the effect of resolving blood stasis. Processed RPR and RPR peel showed no significant improvement. This suggests that the traditional stasis-dispersing efficacy of RPR may be weakened by the concocting process, and that raw products should be used to disperse stasis in clinical practice.

【Keywords】 *Radix Paeoniae Rubra*; Promoting blood circulation and removing blood stasis; Cold-congealed qi stagnation; Platelets

血栓性疾病 (thrombotic diseases, TD) 是循环血液中的血管内形成异常的血凝块造成的疾病, 且呈逐年增加的趋势, 严重威胁着人类的生命健康, 成为当代医学研究的重点和热点之一。目前, 临床上防治 TD 的药物主要包括抗凝血、溶血栓及抗血小板聚集三类。中医将 TD 归属于“血瘀证”范畴, 是中医中较为常见的病症, 也是多种重大疾病发生发展的共同基础。中医学认为, 血瘀是指“血液的循行迟缓, 流行不畅, 甚至血液停滞的病理状态”^[1]。现代血液学认为, 瘀血是有物质性的, 由于形成“瘀血”的途径和病因不同, 其类型可分为“有形”之瘀和“无形”之瘀, 有形者如血栓、结块、瘀斑、结缔组织异常增生、动脉斑块等, 无形者如血液流变性增加、

血液动力学障碍、产生炎症等^[2]。随着现代科学技术的发展, 中医学与之相结合, 更加明确了血瘀证的概念及范畴。

赤芍 (*Radix Paeoniae Rubra*) 性味苦寒, 归肝经, 无毒, 具有清热凉血、散瘀止痛的功效, 是中医临床常用的活血化瘀药物。《中国药典 (2020 年版)》^[3] (以下简称“药典”) 规定赤芍来源于毛茛科植物芍药 (*Paeonia lactiflora* Pall.) 或川赤芍 (*Paeonia veitchii* Lynch.) 的干燥根, 白芍 (*Radix Paeoniae Alba*.) 来源于毛茛科植物芍药 (*Paeonia lactiflora* Pall.) 的干燥根, 说明赤芍和白芍植物来源基本一致。同时药典利用不同的炮制方法区分赤芍和白芍, 采挖后除去芍药的干燥根茎、须根及泥沙, 直接晒干为赤芍;

除去头尾和细根，去皮后沸水煮或煮完再去皮，晒干后即成为白芍。由此看出，药典从加工方法上对赤芍和白芍进行区分，规定了“去皮”和“水煮”的处理方法。但同基源的二者在临床上却应用于不同病症，因此，本文通过对血瘀大鼠的凝血过程、血小板活化程度以及内皮功能的研究，探讨野生品赤芍炮制前后的散瘀作用，为中医“活血化瘀”理论提供科学依据，同时有助于更精准地理解和应用中医证候理论，特别是血瘀证的病理机制和治疗原则，验证中医经典理论中关于赤芍和白芍功效的描述，优化临床用药，为传统理论提供现代科学依据。

1 材料与方法

1.1 主要仪器

BC6000 型全自动血液细胞分析仪（深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司）；CS5100 型全自动凝血分析仪（日本希斯美康公司）；990 型全自动血液黏度动态分析仪（重庆南方数控设备有限公司）；AG400 型半自动血小板聚集仪（山东泰利信医疗科技有限公司）；VICTOR Nivo 酶标仪（美国 PerkinElmer 公司）；HT7700 型透射电子显微镜（日本日立公司）。

1.2 主要药品与试剂

野生品赤芍，采自黑龙江省大兴安岭地区，经齐齐哈尔医学院王晓丽教授鉴定为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的根；盐酸肾上腺素注射液（遂成药业股份有限公司，批号：1230801）；二磷酸腺苷（adenosine diphosphate, ADP，上海易恩化学技术有限公司，货号：R212060）；花生四烯酸（arachidonic acid, AA，上海源叶生物科技有限公司，批号：T90217）；一氧化氮（nitric oxide, NO，批号：241224109R）、内皮素-1（endothelin-1, ET-1，批号：241224116R）、血栓素（thromboxane, TXB2，批号：241224122R）、6-酮前列腺素 F1 α （6-keto prostaglandin F1 α , 6-keto-PGF1 α ，批号：241224132R）、细胞间黏附分子-1（intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1，批号：241224138R）、血管细胞黏附分子-1（vascular cell adhesion molecule 1, VCAM-1，批号：241224141R）、血管性血友病因子（von willebrand factor, vWF，批号：241224147R）、环磷酸腺

苷（cyclic adenosine monophosphate, cAMP，批号：240909154R）、可溶性 CD40 配体（soluble CD40 ligand, sCD40L，批号：241224154R）、血小板 α -颗粒膜蛋白（ α -granule membrane protein-140, GMP-140，批号：241224159R）、P 选择素（P-selectin，批号：241224163R）ELISA 试剂盒均购自江苏酶免实业有限公司。

1.3 动物

清洁级健康雄性 SD 大鼠，体重（ 180 ± 20 ）g，购自黑龙江誉恒兽医科技服务有限公司，动物许可证号：SCXK（黑）2019-001。实验前动物在本实验室适应性饲养 1 周，分笼饲养于 SPF 级动物房，室温 20~22℃，相对湿度 60%~70%，动物常规饲养，自由进食和饮水。本研究遵循动物实验国际认可标准，严格执行“3R”原则（替代、减少、优化）。本实验经齐齐哈尔医学院动物伦理委员会批准（伦理审批号：QMU-ACEE-2023-107）。

1.4 方法

1.4.1 野生赤芍水提液、炮制品赤芍水提液及赤芍皮水提液的制备

分别称取野生品赤芍（野生赤芍条干品）、炮制品赤芍（取野生赤芍条刮去皮后，经水煮、晾干后即得去皮赤芍）、赤芍皮（野生赤芍条上刮下来的皮），分别粉碎，常规提取后，减压浓缩至 1.08 g 生药/mL，即得野生品赤芍水提液、炮制品赤芍水提液和赤芍皮水提液，4℃冷藏，备用。

1.4.2 动物分组、给药及建模

动物适应性喂养 1 周后，将大鼠随机分为 5 组：空白组、寒凝气滞血瘀证模型组、野生品赤芍水提液组（赤水组，10.08 g/kg）、炮制品赤芍水提液组（炮赤水组，10.08 g/kg）、赤芍皮水提液组（赤皮水组，10.08 g/kg），每组 8 只。每日上午，对各组动物进行预防性灌胃给药（10 mL/kg），连续 15 d。期间根据大鼠体重变化调整灌胃体积。空白组与模型组每日灌胃等体积纯净水。

除空白组外，其余各组采用大鼠皮下注射盐酸肾上腺素和冰水浴复合方法制备寒凝气滞血瘀证大鼠模型：末次给药 0.5 h 后，大鼠皮下注射 0.1% 盐酸肾上腺素注射液 0.2 mL（空白组则注射等体积生理盐水）；2 h 后将大鼠于冰水混合物中浸泡

5 min; 再间隔 2 h, 再次皮下注射 0.1% 盐酸肾上腺素注射液 0.2 mL (空白组大鼠同样注射等体积生理盐水)。造模后动物禁食不禁水, 次日取材检测指标, 采用 3% 戊巴比妥钠对大鼠进行麻醉处理。

1.4.3 一般体征观察

观察各组大鼠毛发、行动、精神状态, 舌面颜色等。并分析计算舌色的红色值 (red, R)、绿色值 (green, G)、蓝色值 (blue, B)、色调 (hue, H)、饱和度 (saturation, S)、明度 (value, V)。

1.4.4 血小板聚集率、凝血功能指标和血液流变学指标的检测

采用血小板聚集仪、全自动凝血仪及全自动血液流变分析仪, 严格遵循各仪器的标准操作规程进行各指标检测。

1.4.5 血管内皮功能和血小板活化密切相关的活性物质的检测

采用 ELISA 法, 并严格按照试剂盒操作说明, 测定大鼠血清中 NO、ET-1、TXB₂、6-keto-PGF₁ α 、ICAM-1、VCAM-1、vWF、GMP-140、P-Selectin、sCD40L 和 cAMP 的含量。

1.4.6 腹主动脉血管形态学的 HE 染色观察

取腹主动脉, 经 4% 多聚甲醛溶液固定后,

进行石蜡包埋、切片及染色, 最后于显微镜下观察其组织结构变化。

1.4.7 血管内皮细胞结构的透射电镜观察

取腹主动脉血管, 于 2.5% 戊二醛溶液中固定, 随后经脱水、浸透、包埋、切片及染色等常规制样处理, 最后在透射电镜下观察其超微结构变化。

1.5 统计学分析

采用 GraphPad Prism 10 统计软件对结果进行作图统计分析, 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间数据比较采用单因素方差分析 (one-way ANOVA), 事后两两比较采用 Tukey 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般体征

2.1.1 各组血瘀证大鼠的一般状态

实验过程中, 因出现建模动物死亡, 最终纳入统计分析的数量每组 6 只。各组大鼠造模后出现聚集扎堆, 活动减少, 反应迟缓, 精神萎靡, 便溏, 四肢无力等状态, 大鼠舌面颜色呈暗紫色。赤水组大鼠状态比模型组为好, 大鼠舌面颜色明显改善趋于正常, 炮赤水组和赤皮水组大鼠状态与模型组比较无明显变化, 大鼠舌苔颜色暗淡发深发紫。具体见图 1。

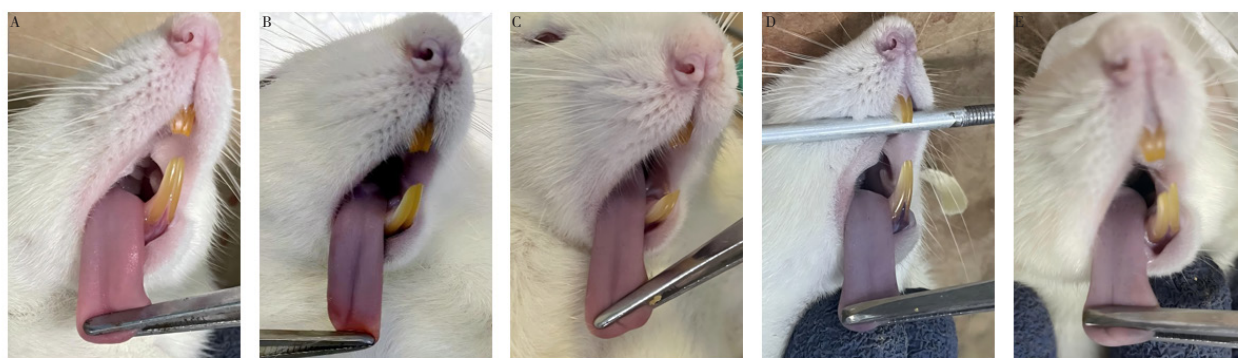


图1 各组大鼠舌象变化

Figure 1. Changes in the tongue sign of rats in each group

注: A. 空白组; B. 模型组; C. 赤水组; D. 炮赤水组; E. 赤皮水组。

2.1.2 各组大鼠舌色校正 R、G、B、H、S、V 值的比较

与空白组比较, 模型组大鼠舌色的 R、H、S、V 值显著降低, G、B 值显著升高 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 赤水组大鼠舌色 R、H、S、V 值升高, G、B 值降低, 趋于空白组 ($P < 0.05$); 炮赤水组大鼠舌色的 H、S 值降低 ($P < 0.05$),

R、G、B、V 值无明显改变 ($P > 0.05$); 赤皮水组大鼠舌色 B、S 值降低 ($P < 0.05$), R、G、H、V 值无明显改变 ($P > 0.05$)。具体见表 1。

2.2 对血小板聚集率、凝血功能和血液流变学的影响

与空白组相比, 模型组大鼠的 ADP 和 AA 诱导的血小板聚集率均显著升高, 大鼠的活化部

分凝血活酶时间 (activated partial thromboplastin time, APTT)、凝血酶原时间 (prothrombin time, PT) 和凝血酶时间 (thrombin time, TT) 显著缩短, 纤维蛋白原 (fibrinogen, FIB) 含量、血浆黏度和切变率在 200、30、1 s^{-1} 下的全血黏度显著升高 ($P < 0.05$); 与模型组相比, 赤水组中 ADP 和 AA 诱导的血小板聚集率显著降低, 大鼠的 APTT、PT 和 TT 显著延长, FIB 含量、血浆黏度和切变率在 200、30、1 s^{-1} 下的全血黏度显著降低 ($P < 0.05$); 炮赤水组和赤皮水组中各指标无明显改变 ($P > 0.05$)。具体见图 2~图 4。

2.3 对寒凝气滞血瘀证模型大鼠血管内皮功能和血小板活化活性物质的影响

2.3.1 对寒凝气滞血瘀证模型大鼠血清 NO、ET-1、6-keto-PCF1 α 、TXB2 含量的影响

与空白组比较, 模型组大鼠血清中 NO、6-keto-PGF1 α 含量以及 NO/ET-1 比值显著下降 ($P < 0.05$), ET-1 和 TXB2 含量显著升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 赤水组大鼠血清中的 NO 和 6-keto-PGF1 α 含量及 NO/ET-1 比值均显著升高 ($P < 0.05$), ET-1 和 TXB2 含量显著下降 ($P < 0.05$); 炮赤水组和赤皮水组大鼠血清中各指标无显著变化 ($P > 0.05$)。具体见图 5。

表1 各组大鼠整体舌色参数比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 1. Comparison of overall tongue color parameters among groups of rats ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	R	G	B	H	S	V
空白组	158.67 $\pm$ 3.08	77.33 $\pm$ 6.62	98.00 $\pm$ 5.62	345.50 $\pm$ 3.21	29.50 $\pm$ 1.38	62.33 $\pm$ 1.51
模型组	100.67 $\pm$ 7.00 ^a	112.17 $\pm$ 2.86 ^a	123.33 $\pm$ 3.88 ^a	306.83 $\pm$ 5.74 ^a	23.17 $\pm$ 1.83 ^a	39.50 $\pm$ 2.66 ^a
赤水组	139.83 $\pm$ 6.24 ^b	82.33 $\pm$ 3.08 ^b	96.83 $\pm$ 5.71 ^b	344.17 $\pm$ 6.71 ^b	41.17 $\pm$ 4.31 ^b	55.00 $\pm$ 2.45 ^b
炮赤水组	104.33 $\pm$ 5.82	110.33 $\pm$ 4.37	114.00 $\pm$ 9.65	270.00 $\pm$ 9.27 ^b	16.17 $\pm$ 2.32 ^b	41.33 $\pm$ 3.20
赤皮水组	100.50 $\pm$ 7.66	110.50 $\pm$ 2.43	106.00 $\pm$ 3.52 ^b	318.33 $\pm$ 17.17	18.17 $\pm$ 1.72 ^b	41.67 $\pm$ 3.67

注: 与空白组比较, ^a $P < 0.01$; 与模型组比较, ^b $P < 0.01$ 。

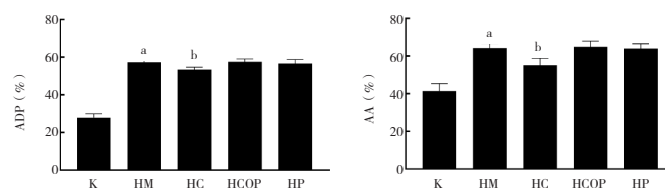


图2 各组大鼠血小板聚集率 ($n=6$)

Figure 2. Platelet aggregation rate of rats in each group ($n=6$)

注: K: 空白组; HM: 模型组; HC: 赤水组; HCQP: 炮赤水组; HP: 赤皮水组; 与空白组比较, ^a $P < 0.01$; 与模型组比较, ^b $P < 0.01$ 。

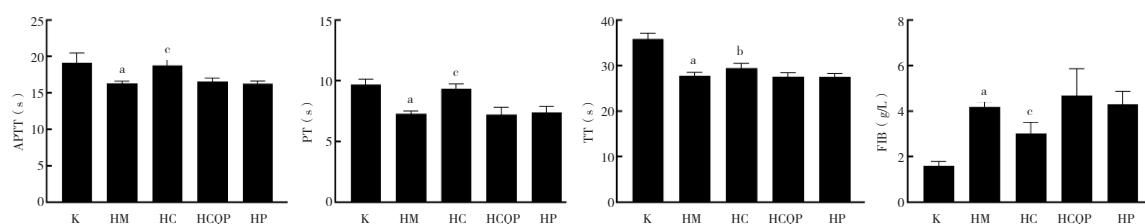


图3 各组大鼠凝血四项指标 ($n=6$)

Figure 3. Four indexes of coagulation in rats of each group ($n=6$)

注: K: 空白组; HM: 模型组; HC: 赤水组; HCQP: 炮赤水组; HP: 赤皮水组; 与空白组比较, ^a $P < 0.01$; 与模型组比较, ^b $P < 0.05$, ^c $P < 0.01$ 。

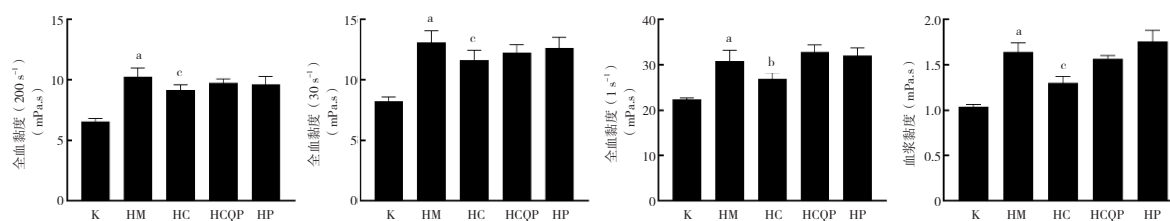


图4 各组大鼠全血黏度和血浆浓度 ($n=6$)

Figure 4. Whole blood viscosity and plasma concentration of rats in each group ($n=6$)

注: K: 空白组; HM: 模型组; HC: 赤水组; HCQP: 炮赤水组; HP: 赤皮水组; 与空白组比较, ^a $P < 0.01$; 与模型组比较, ^b $P < 0.05$, ^c $P < 0.01$ 。

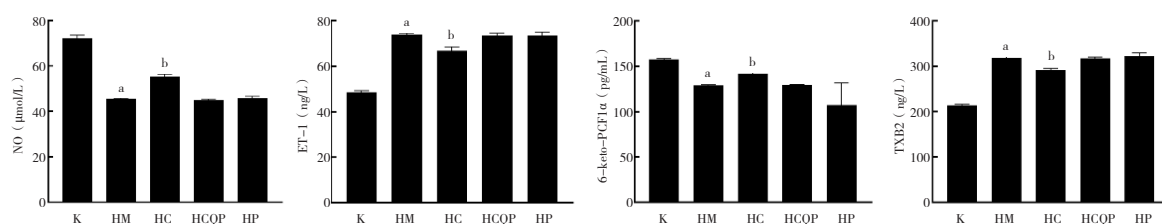


图5 各组大鼠血清NO、ET-1、6-keto-PCF1α和TXB2含量 (n=6)

Figure 5. Levels of NO, ET-1, 6-keto-PCF1α, and TXB2 in the serum of rats in each group (n=6)

注: K: 空白组; HM: 模型组; HC: 赤水组; HCQP: 炮赤水组; HP: 赤皮水组; 与空白组比较, ^a $P < 0.01$; 与模型组比较, ^b $P < 0.01$ 。

2.3.2 对寒凝气滞血瘀证模型大鼠血清 ICAM-1、VCAM-1和vWF含量的影响

与空白组比较, 模型组大鼠血清中 ICAM-1、VCAM-1 和 vWF 含量显著升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 赤水组大鼠血清中 ICAM-1、VCAM-1 和 vWF 含量显著下降 ($P < 0.05$); 炮赤水组和赤皮水组大鼠血清中 VCAM-1 和 vWF 含量有降低趋势, ICAM-1 含量无显著变化 ($P > 0.05$)。具体见图 6。

2.3.3 对寒凝气滞血瘀证模型大鼠血清 GMP-140、P-selectin、cAMP和sCD40L含量的影响

与空白组比较, 模型组大鼠血清中 GMP-140、P-selectin 和 sCD40L 含量显著升高, cAMP 含量降低 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 赤水组大鼠血清中 GMP-140、P-selectin 和 sCD40L 含量显著下降, cAMP 含量升高 ($P < 0.05$); 炮赤水组和赤皮水组大鼠血清中 GMP-140 和 P-selectin 含

量有降低趋势, cAMP 和 sCD40L 含量无显著变化 ($P > 0.05$)。具体见图 7。

2.4 对寒凝气滞血瘀证模型大鼠腹主动脉血管形态的影响

空白组大鼠血管的血管壁内膜完整光滑, 无脱落现象, 内膜下细胞排列整齐, 血管周围组织均无明显变化; 模型组大鼠血管内、中、外膜结构破坏严重, 内皮细胞增生、肿胀、脱落、消失, 多处内弹力膜断裂, 平滑肌排列紊乱, 血管外膜厚度明显增加; 赤水组大鼠血管内皮组织损伤有所减轻, 血管内膜、中膜结构尚清晰、完整, 内皮细胞少许脱落; 炮赤水组和赤皮水组大鼠血管内皮组织损伤严重, 管腔内可见淤血, 血管膜结构不清, 内弹力膜断裂, 内皮细胞脱落消失。具体见图 8。

2.5 对气滞寒凝血瘀证模型大鼠血管内皮细胞的超微结构的影响

空白组大鼠腹主动脉血管内皮细胞结构完整, 为单层扁平上皮细胞, 细胞核、胞浆、线粒

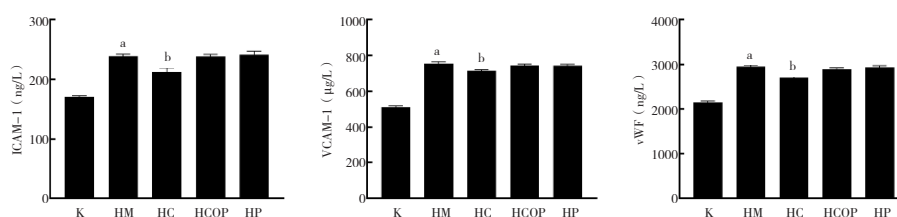


图6 各组大鼠血清ICAM-1、VCAM-1和vWF含量 (n=6)

Figure 6. Levels of ICAM-1, VCAM-1, and vWF in the serum of rats in each group (n=6)

注: K: 空白组; HM: 模型组; HC: 赤水组; HCQP: 炮赤水组; HP: 赤皮水组; 与空白组比较, ^a $P < 0.01$; 与模型组比较, ^b $P < 0.01$ 。

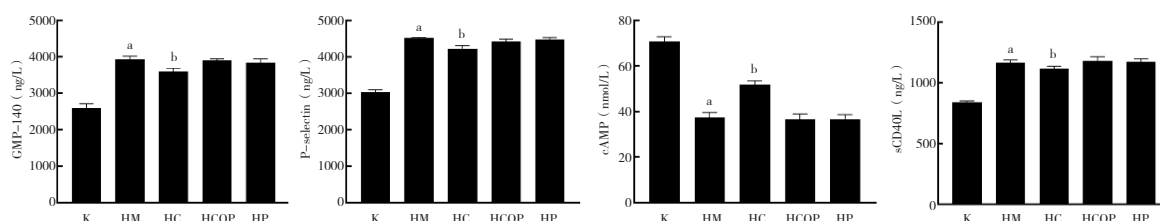


图7 各组大鼠血清GMP-140、P-selectin、cAMP和sCD40L含量 (n=6)

Figure 7. Levels of GMP-140, P-selectin, cAMP and sCD40L in the serum of rats in each group (n=6)

注: K: 空白组; HM: 模型组; HC: 赤水组; HCQP: 炮赤水组; HP: 赤皮水组; 与空白组比较, ^a $P < 0.01$; 与模型组比较, ^b $P < 0.01$ 。

体形态正常。模型组大鼠主动脉管壁结构紊乱，内皮细胞欠完整，部分水肿、断裂，细胞内线粒体肿胀、细胞核固缩，线粒体内空泡严重。赤水组大鼠主动脉内皮细胞形态有所改善，内皮细胞结构较完整，内皮细胞扁平，细胞核、线粒体形

态趋于正常，个别线粒体肿胀，内皮细胞核核固缩现象也明显减轻；炮赤水组和赤皮水组大鼠主动脉超微结构较模型组无明显改善，内皮细胞不完整、断裂，细胞内线粒体肿胀、细胞核固缩，线粒体内空泡严重。具体见图9。

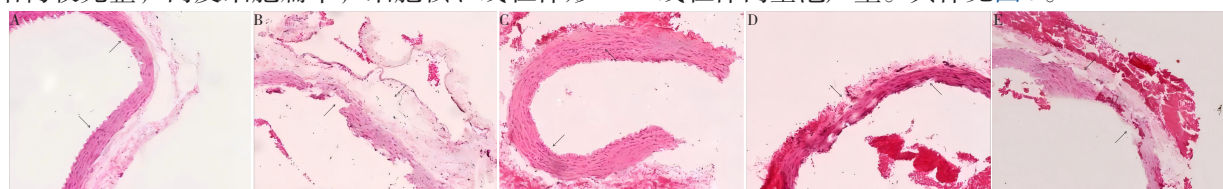


图8 各组大鼠腹主动脉HE染色图 (100 ×)

Figure 8. HE staining of the abdominal aorta of rats in various groups (100 ×)

注：A. 空白组；B. 模型组；C. 赤水组；D. 炮赤水组；E. 赤皮水组。

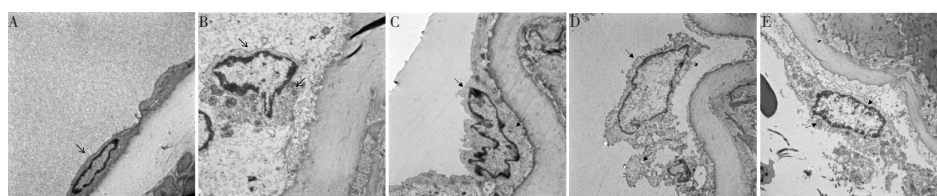


图9 各组大鼠血管内皮细胞超微结构图 (18 000 ×)

Figure 9. Ultrastructure of rat vascular endothelial cells in each group (18 000 ×)

注：A. 空白组；B. 模型组；C. 赤水组；D. 炮赤水组；E. 赤皮水组。

3 讨论

血栓形成，即血管内血栓的生成或存在，与血小板的活化、黏附、聚集、分泌功能以及内、外在凝血系统的激活密切相关。中医上称之为血瘀证，血瘀证是中医临床常见证型，中医认为气虚、气滞、寒凝、血热、痰阻或外伤等多种因素均会导致血瘀证的发生发展^[4]。现代医学认为，血瘀证的病理过程和血液循环障碍密切相关，主要表现在血液流变性异常（血液浓、黏、凝、聚）、微循环障碍和局部血液动力学异常等方面^[5]。血瘀证的临床表现与血液流变学及凝血功能异常较为一致，故血液流变学和凝血因子可作为评价血瘀证的重要指标^[6]。本研究采用寒冷刺激结合皮下注射肾上腺素建立寒凝气滞血瘀证大鼠模型^[7]，可模拟人体血瘀证的临床症状，接近血瘀证在临床上的发病过程，符合中医证候特点的同时，与现代医学的观点相一致，且模型稳定性好。

舌诊具有显著的中医学特色和代表性，机体各种生理、病理变化，尤其是血液循环状况会通过舌象表现出来，故在临床上，利用舌诊来评估患者的病情及治疗效果具有一定意义^[8-9]。由于舌诊具有一定的主观性，在诊断上容易造成失误，因此，我们采用舌象图像分析常用的颜色模

型 RGB 模型和 HSV 模型，客观地对舌诊进行评价^[10-11]。结果显示，模型组大鼠存在血瘀及微循环障碍，舌色变化符合寒凝气滞血瘀证特征；赤水组大鼠舌色指标趋于空白组，表明赤芍对改善舌色和血液循环等潜在的病理状态具有积极作用，而炮制品赤芍和赤芍皮对血瘀大鼠舌苔颜色无明显改善作用。

血小板在血栓的形成过程中扮演着重要角色，主要参与机体的止血活动和血栓形成。ADP 和 AA 是血小板聚集试验常用的诱导剂，可导致血小板聚集，引起凝血，促进血栓形成^[12-14]。凝血四项（APTT、PT、TT、FIB）可反映机体抗凝和促凝的能力，用于评估血液凝固功能的实验室检测方法，是临床实践中 TD 检查相关的 4 个指标^[15]。结果显示，赤芍对血小板聚集有抑制作用，并使大鼠凝血过程减慢，凝血功能受到抑制，炮赤水组、赤皮组对此均无显著作用。另外，为了评估赤芍对血液微循环的影响，本实验检测了各组大鼠血液流变学参数，这些参数是衡量血液流动性的指标，反映了血液在不同流动状态下的黏度特性，结果显示赤芍能够促进血液循环、逆转血液的高凝状态，进而起到对血瘀的改善作用。而炮赤水组和赤皮水组中大鼠血液流变学参数无显著变化，显示其未改善血瘀大鼠高凝状态。

NO、ET-1、TXB2 及 6-keto-PGF1 α 是血管内皮细胞分泌的血管活血因子，NO 是一种重要的血管舒张因子，由内皮型一氧化氮合酶合成，能够扩张血管、抑制血小板聚集、改善微循环^[16-17]；ET-1 是由血管内皮细胞产生的强效血管收缩肽，具有强烈的收缩血管、促进血小板聚集作用，NO 与 ET-1 平衡的破坏会导致血栓的形成^[18-19]。《血瘀证中西医结合诊疗共识》^[20] 现已将 NO 和 ET-1 水平作为血瘀证实验室的诊断指标。TXB2 是血栓素 A2 的稳定代谢产物，能够收缩血管、促进血小板聚集，而 6-keto-PGF1 α 是前列腺素 I2（也称前列环素）的稳定代谢产物，能够舒张血管、抑制血小板聚集，防止血栓形成，保护血管通畅^[18-19]；并通过激活腺苷酸环化酶，增加细胞内 cAMP 水平。结果显示，赤芍通过升高血瘀大鼠 NO 含量，降低 ET-1 含量，从而维持 NO 和 ET-1 的动态平衡（以 NO/ET-1 表示），防止瘀血的形成；同时还可显著降低 TXB2 含量，升高 6-keto-PGF1 α 含量维持其的平衡，从而达到散瘀作用。炮制品赤芍和赤芍皮对此无显著影响。

血管内皮完整性的欠缺使凝血酶系统被激活，引起血小板的黏附和聚集，形成血栓。vWF 是由血管内皮细胞合成的多聚糖蛋白，是反映血管内皮细胞损伤的敏感指标^[21]。ICAM-1 和 VCAM-1 参与血管内皮细胞的活化，可导致血管内皮损伤，内皮细胞凋亡并累积，促进内膜形成和狭窄^[22-23]。结果表明，赤芍可降减轻血管损伤程度，预防血栓以及防止过度血栓的形成并发挥化瘀作用。炮制后赤芍和赤芍皮可能具有潜在的改善内皮功能作用，但效果弱于赤芍，且对 ICAM-1 介导的黏附途径影响有限。GMP-140 是血小板活化的敏感分子标志物，可反映血管内皮细胞受损程度，以及血栓形成倾向，可作为评价血小板功能和血管内皮细胞受损的指标^[24]。P-selectin 是一种黏附分子选择素，当血小板被活化，血小板与内皮细胞上 P-selectin 的表达量增加，形成血栓，促进血瘀证的发生发展^[25-26]。cAMP 是一种重要的细胞内第二信使，在多种生理和病理过程中起重要作用，可抑制血小板过度激活，有效地保护血管内皮细胞，减少血栓形成，降低血液黏稠度，扩张血管^[27]。sCD40L 是一种参与机体炎症反应的跨膜糖蛋白，也是检测血小板活化的一项指标，其参与血管内皮细胞的功能调节，

其高表达会增加血栓形成的风险^[28-29]，结果显示，赤芍能抑制血小板活化或内皮损伤，改善寒凝气滞血瘀证，预防血栓形成与发展，炮制品赤芍和赤芍皮对此无显著影响。

根据组织病理学结果显示，赤水组大鼠血管内皮结构接近正常（内膜增生减轻，细胞形态完整），而炮制品赤芍、赤芍皮对血管损伤的改善效果弱于赤芍，进一步支持赤芍的血管保护优势。

综上，本研究证实赤芍能够通过多靶点（抗凝、改善血流、保护内皮、抑制血小板活化等）改善血瘀证，为中医“活血化瘀”理论提供科学依据，而白芍（炮制品赤芍）和赤芍皮在本模型中作用有限。同时，从现代科学角度阐释了中医“赤芍与白芍活血功效”的差异性，证实了赤芍在活血化瘀方面的显著优势，为二者临床精准应用提供依据。通过揭示赤芍和白芍的作用差异，为中医药理论中“赤芍活血”的传统应用提供了现代科学依据，对赤芍中医临床应用具有指导意义，并为赤芍治疗血瘀证的临床应用提供证据，为其药物开发提供科学依据，促进其在新药开发中的利用。未来可深入解析赤芍活血化瘀功效的药效物质基础及其活性成分的分子机制，并探索白芍在其他病理条件下的潜在价值。

参考文献

- 1 日本·汤本求真，著·周子叙，译·皇汉医学[M]。北京：中国中医药出版社，2007：14
- 2 陈可翼，主编·活血化瘀研究与临床[M]。北京：中国中医药出版社，2012：18-19，23，78。
- 3 中国药典 2020 年版·一部[S]。2020：63-64，79-80，88-89，139，270。
- 4 佚名·韩伦，译注·诗经[M]。南昌：江西人民出版社，2017：79。
- 5 马王堆汉墓帛书整理小组·马王堆汉墓帛书《五十二病方》[M]。北京：文物出版社，1979：180-182。
- 6 张琳琳，刘振丽，王淳，等·乳香醋炙前后对血瘀模型大鼠改善作用的对比研究[J]。中国中医基础医学杂志，2022，28(4)：545-549，581。[Zhang LL, Liu ZL, Wang C, et al. Comparative study on the ameliorative effect of *Boswellia serrata* before and after vinegar baking on rats with blood stasis model[J]. Chinese Journal of Basic Medicine in Traditional Chinese Medicine, 2022, 28(4): 545-549, 581.] DOI: 10.19945/j.cnki.issn.1006-3250.2022.04.02.
- 7 欧阳林旗，蒋司晨，陈镇，等·乌药挥发油对寒凝气滞血瘀证大鼠血液流变学及 NO-s GC-c-GMP 信号通路的影响[J]。中草药，2022，53(15)：4730-4737。[Ouyang LQ, Jiang SC, Chen Z, et al. Effects of Wu Yao volatile oil on blood rheology and NO-s GC-cGMP signalling pathway in rats with cold-congealed qi stagnation and blood stasis[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2022, 53(15): 4730-4737.] DOI:

- 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.15.016.
- 8 田琪, 吕琴, 任健, 等. 舌象采集及其特征分析的客观化研究进展[J]. 中医药导报, 2023, 29(3): 119–123. [Tian Q, Lyu Q, Ren J, et al. Research progress in the objectification of tongue image acquisition and feature analysis[J]. Guiding Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacology, 2023, 29(3): 119–123.] DOI: [10.13862/j.cn43-1446/r.2023.03.023](https://doi.org/10.13862/j.cn43-1446/r.2023.03.023).
 - 9 张继伟, 李秋艳, 王妙然, 等. 基于 VOSviewer 和 CiteSpace 的舌诊客观化知识图谱可视化分析[J]. 世界中西医结合杂志, 2022, 17(9): 1697–1703, 1708. [Zhang JW, Li QY, Wang MR, et al. Visual analysis of tongue diagnosis objectification knowledge graph visualisation based on VOSviewer and CiteSpace[J]. World Journal of Integrated Traditional and Western Medicine, 2022, 17(9): 1697–1703, 1708.] DOI: [10.13935/j.cnki.sjzx.220901](https://doi.org/10.13935/j.cnki.sjzx.220901).
 - 10 王可仪, 薛晓娟, 孟令坤, 等. 中医舌象客观化技术的可视化分析[J]. 天津中医药, 2025, 42(4): 467–474. [Wang KY, Xue XJ, Meng LK, et al. Visual analysis of tongue image objectification technique in traditional Chinese medicine[J]. Tianjin Journal of Traditional Chinese Medicine, 2025, 42(4): 467–474.] DOI: [10.11656/j.issn.1672-1519.2025.04.10](https://doi.org/10.11656/j.issn.1672-1519.2025.04.10).
 - 11 钱鹏, 燕海霞, 李福凤. 中医舌诊客观化研究的临床应用进展[J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(5): 2839–2842. [Qian P, Yan HX, Li FF. Progress in the clinical application of objective research on tongue diagnosis in Chinese medicine[J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2021, 36(5): 2839–2842.] <https://www.cnki.com.cn/Article/CJFDTotal-BXYZ202105098.htm>.
 - 12 Nam G, Kim S, Kwon SY, et al. Taraxacum coreanum inhibits agonist-induced platelet aggregation without affecting blood coagulation[J]. Appl Sci, 2025, 15(4): 2053–2053. DOI: [10.3390/app15042053](https://doi.org/10.3390/app15042053).
 - 13 CLSI. Platelet function testing by aggregometry; approved guideline. CLSI document H58-A[M]. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008.
 - 14 中国老年保健医学研究会检验医学分会. 光学比浊法检测血小板聚集标准化专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2021, 44(6): 472–479. [Chinese Geriatrics and Healthcare Medicine Research Society, Laboratory Medicine Branch. Expert consensus on standardized platelet aggregation detection with light transmission aggregometry[J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2021, 44(6): 472–479.] DOI: [10.3760/cma.j.cn114452-20210208-00098](https://doi.org/10.3760/cma.j.cn114452-20210208-00098).
 - 15 Kurata M, Horii I. Blood coagulation tests in toxicological studies—review of methods and their significance for drug safety assessment[J]. J Toxicol Sci, 2004, 29(1): 13–32. DOI: [10.2131/jts.29.13](https://doi.org/10.2131/jts.29.13).
 - 16 Napoli C, Ignarro LJ. Nitric oxide and pathogenic mechanisms involved in the development of vascular diseases[J]. Arch Pharm Res, 2009, 32(8): 1103–1108. DOI: [10.1007/s12272-009-1801-1](https://doi.org/10.1007/s12272-009-1801-1).
 - 17 蒋庆娟, 应燕萍. 内皮型一氧化氮合酶与血栓性疾病的研究进展[J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(6): 140–144. [Jiang QJ, Ying YP. Research progress on endothelial nitric oxide synthetase and thrombotic diseases[J]. Chinese Journal of Comparative Medicine, 2020, 30(6): 140–144.] DOI: [10.3969/j.issn.1671-7856.2020.06.021](https://doi.org/10.3969/j.issn.1671-7856.2020.06.021).
 - 18 Cao D, Xu CC, Xue YY, et al. The therapeutic effect of Ilex pubescens extract on blood stasis model rats according to serum metabolomics[J]. J Ethnopharmacol, 2018, 227: 18–28. DOI: [10.1016/j.jep.2018.08.026](https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.08.026).
 - 19 张欣蕾, 王晓, 周子皓, 等. 芒果苷对急性血瘀大鼠血液流变性的影响[J]. 中成药, 2023, 45(3): 944–948. [Zhang XL, Wang X, Zhou ZH, et al. Effects of mangiferin on blood rheology in rats with acute blood stasis[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2023, 45(3): 944–948.] DOI: [10.3969/j.issn.1001-1528.2023.03.044](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1528.2023.03.044).
 - 20 杜金行, 史载祥. 血瘀证中西医结合诊疗共识[J]. 中国中西医结合杂志, 2011, 31(6): 839–844. [Du JX, Shi ZX. Consensus on combined Chinese and Western medicine diagnosis and treatment of blood stasis[J]. Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine, 2011, 31(6): 839–844.] <https://d.wanfangdata.com.cn/periodical/ChpNaW5leBlcmVZGljYWxDSEkyMDIzMDcyNRIOenh5amgyMDExMDYwMjcaCGxxYzd1ZDE1>.
 - 21 黄晓丹, 黄雪君, 甘海宁, 等. 基于血清代谢组学探讨芍药标准汤剂与配方颗粒对热毒血瘀证大鼠的效应机制[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(19): 5181–5192. [Huang XD, Huang XJ, Gan HN, et al. Serum metabolomics reveals effects of standard decoction and formula granules of Paeoniae Radix Rubra on rat model of heat toxin and blood stasis[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2024, 49(19): 5181–5192.] DOI: [10.19540/j.cnki.cjcm.20240710.301](https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcm.20240710.301).
 - 22 Malekmohammad K, Sewell RDE, Rafieian-Kopaei M. Antioxidants and atherosclerosis: mechanistic aspects[J]. Biomolecules, 2019, 9(8): 301. DOI: [10.3390/biom9080301](https://doi.org/10.3390/biom9080301).
 - 23 Bumroongthai K, Kavanagh DPJ, Genever P, et al. Improving vasculoprotective effects of MSCs in coronary microvessels—benefits of 3D culture, sub-populations and heparin[J]. Front Immunol, 2023, 14: 1257497. DOI: [10.3389/fimmu.2023.1257497](https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1257497).eCollection 2023.
 - 24 张维, 张斌, 徐家萍, 等. 阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征患者 Calpain-10 基因多态性与颈动脉内-中膜厚度的相关性分析[J]. 心肺血管病杂志, 2020, 39(4): 406–409. [Zhang W, Zhang R, Xu JP, et al. Correlation between Calpain-10 gene polymorphism and carotid artery intima-media thickness in patients with obstructive sleep apnoea and hypoventilation syndrome[J]. Journal of Cardiovascular and Pulmonary Diseases, 2020, 39(4): 406–409.] DOI: [10.3969/j.issn.1007-5062.2020.04.011](https://doi.org/10.3969/j.issn.1007-5062.2020.04.011).
 - 25 Paschke L, Foltan M, Wagner MS, et al. Clinical relevance of platelet-leukocyte aggregates and platelet P-selectin expression during venovenous extracorporeal membrane oxygenation[J]. ASAIO J, 2025. DOI: [10.1097/MAT.0000000000002421](https://doi.org/10.1097/MAT.0000000000002421).
 - 26 McEver RP. Selectins: initiators of leucocyte adhesion and signalling at the vascular wall[J]. Cardiovasc Res, 2015, 107(3): 331–339. DOI: [10.1093/cvr/cvv154](https://doi.org/10.1093/cvr/cvv154).
 - 27 郝二伟, 邓家刚, 杜正彩, 等. 平性药桃仁对寒热不同血瘀证大鼠 cAMP-PKA 信号通路的影响[J]. 中药材, 2013, 36(5): 780–783. [Hao EW, Deng JG, Du ZC, et al. Study on the regulation role of Semen persicae to c-AMP-PKA signal pathway in the rats with cold and heat blood stasis syndrome[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2013, 36(5): 780–783.] DOI: [10.13863/j.issn1001-4454.2013.05.027](https://doi.org/10.13863/j.issn1001-4454.2013.05.027).
 - 28 Lorente L, Martín MM, González-Rivero AF, et al. High serum scd40L levels during the first week of malignant middle cerebral artery infarction and mortality[J]. World Neurosurg, 2019, 132(4): e630–e636. DOI: [10.1016/j.wneu.2019.08.060](https://doi.org/10.1016/j.wneu.2019.08.060).
 - 29 Simic D, Bogdan N, Teng F, et al. Blocking $\alpha 5 \beta 1$ integrin attenuates scd40L-mediated platelet activation[J]. Clin Appl Thromb Hemost, 2017, 23(6): 607–614. DOI: [10.1177/1076029615624549](https://doi.org/10.1177/1076029615624549).

收稿日期: 2025 年 07 月 08 日 修回日期: 2025 年 08 月 19 日
 本文编辑: 马琳璐 钟巧妮