

超高效液相色谱-串联质谱法测定环磷酰胺所致免疫低下大鼠血清中的5种内源性代谢物

胥爱丽^{1,3}, 邬旻珊², 陈伟韬¹, 曾志浩¹, 肖观林¹, 卢文森², 李养学^{1*}

(1. 广东省中医药工程技术研究院, 广东 广州 510095; 2. 广州中医药大学 第五临床医学院, 广东 广州 510405; 3. 广东省中医药研究开发重点实验室, 广东 广州 510095)

摘要: 采用超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)建立了环磷酰胺所致免疫低下大鼠血清中谷胱甘肽(GSH)、DL-谷氨酰胺(DL-Gln)、谷氨酸(GA)、1-O-十六烷基-SN-甘油基-3-胆碱磷酸(LPC(0-16:0))、花生四烯酸(AA)5种体内代谢物的测定方法。血清样品经蛋白沉淀后, 采用ACQUITY Poroshell 120 SB-C₁₈色谱柱(2.1 mm×100 mm, 2.7 μm), 以甲醇-5 mmol·L⁻¹乙酸铵水溶液为流动相进行梯度洗脱, 测定GSH、DL-Gln、GA和AA; 采用ACQUITY UPLC BEH Amide色谱柱(2.1 mm×150 mm, 1.7 μm), 以乙腈-5 mmol·L⁻¹甲酸铵水溶液为流动相进行梯度洗脱, 测定LPC(0-16:0)。质谱采用电喷雾离子源(ESI), 正负离子模式, 内标法定量。结果显示, 5种代谢物分别在相应的质量浓度范围内线性关系良好($r>0.995$), 检出限为0.043~0.178 ng·mL⁻¹, 定量下限为0.145~0.592 ng·mL⁻¹。该方法简便快速、灵敏度高, 适用于大鼠血清中内源性代谢物的测定, 为免疫低下治疗药物的作用机制研究提供了实验基础。

关键词: 超高效液相色谱-串联质谱; 血清; 体内代谢物; 免疫功能抑制

中图分类号: O657.7; R914.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2026)05-1096-06

Determination of 5 Endogenous Metabolites in Serum from Cyclophosphamide-induced Immunosuppressed Rats by Ultra High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

XU Ai-li^{1,3}, WU Min-shan², CHEN Wei-tao¹, ZENG Zhi-hao¹, XIAO Guan-lin¹,
LU Wen-sen², LI Yang-xue^{1*}

(1. Guangdong Province Engineering Technology Research Institute of T. C. M., Guangzhou 510095, China;
2. The School of the Fifth Clinical Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405,
China; 3. Guangdong Provincial Key Laboratory of Research and Development in Traditional Chinese Medicine,
Guangzhou 510095, China)

Abstract: A detection method for 5 endogenous metabolites in serum from cyclophosphamide-induced immunosuppressed rats was established using ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). After protein precipitation, the samples of serum were separated on an ACQUITY Poroshell 120 SB-C₁₈ (2.1 mm×100 mm, 2.7 μm) column with methanol-5 mmol·L⁻¹ ammonium acetate aqueous solution as the mobile phase by gradient elution for the detection of glutathione, DL-glutamine, glutamic acid, and arachidonic acid; then an ACQUITY UPLC BEH Amide (2.1 mm×150 mm, 1.7 μm) column with acetonitrile-5 mmol·L⁻¹ ammonium formate aqueous solution as the mobile phase by gradient elution for the detection of LPC (0-16:0). The electrospray ionization (ESI) mass spectrometer was operated in positive and negative ion mode and an internal standard method was used for quantification. The 5 metabolites had a good linear relationship within the corresponding mass concentration range ($r>0.995$), with detection limits of 0.043-0.178 ng·mL⁻¹ and quantification limits of 0.145-0.592 ng·mL⁻¹. The method is simple, fast and sensitive, and it is suitable for the detection of endogenous metabolites in rats' serum samples, and to provide experimental basis for the mechanism research of immunosuppressive drugs.

收稿日期: 2026-01-27; 修回日期: 2026-03-02

基金项目: 广东自然科学基金面上项目(2024A1515011249)

* 通讯作者: 李养学, 硕士, 副主任中药师, 研究方向: 中药质量评价, E-mail: efangzg@126.com

网络首发日期: 2026-03-27

Key words: ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS); serum; endogenous metabolites; immunosuppression

免疫系统是机体的重要防御机制,能够识别并清除抗原性异物,从而有效抵御病原体侵袭,对疾病的发生和发展具有关键调控作用^[1]。若免疫细胞数量减少或造血功能下降,则会引起免疫功能降低^[2],并可能诱发多种疾病^[3-4]。因此,建立可靠的免疫低下模型对研究药物药效和疾病发病机制至关重要。环磷酰胺(CTX)是一种氮芥类衍生物,属于广谱抗肿瘤药物,临床上主治淋巴瘤、白血病、多发性骨髓瘤等疾病^[5]。研究表明,环磷酰胺在杀死肿瘤细胞的同时也会损伤宿主的免疫器官和免疫细胞,通过抑制细胞免疫和体液免疫,影响细胞增殖来诱导免疫低下^[6],是制备动物免疫低下模型中应用较为广泛的药物^[7-10]。

机体代谢网络的系统性紊乱是免疫功能低下的本质。据文献报道,免疫功能的调控并非单一信号的作用,而是由氨基酸、脂质、核苷酸及能量代谢构成的复杂网络协同驱动^[11-14]。这些通路不仅为免疫细胞的活化、增殖和效应功能提供物质基础和能量支持,更通过代谢产物作为信号分子直接调控免疫微环境^[15-17]。其中谷胱甘肽、DL-谷氨酰胺、谷氨酸、1-O-十六烷基-SN-甘油基-3-胆碱磷酸及花生四烯酸作为核心节点,通过氧化应激、能量短缺、信号传导障碍及炎症失衡四重通路协同作用,共同削弱机体免疫应答,是与机体免疫功能息息相关的内源性代谢物^[18-22]。而机体在免疫低下时,相关代谢物含量改变,因此有必要建立一种相关代谢物含量的测定方法,以明确免疫低下模型中内源性代谢物的变化情况,深入剖析免疫低下发生机制,并为免疫低下治疗药物的作用机制研究提供参考。

目前,免疫低下相关代谢物的测定方法尚无文献报道。本研究旨在建立上述5种免疫相关内源性代谢物的超高效液相色谱-串联质谱测定方法,为该疾病的药物治疗深入研究奠定基础。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂与材料

ExionLC AC型高效液相色谱仪(AB SCIEX公司)、SCIEX X500R质谱仪(AB SCIEX公司)、ESI离子源(AB SCIEX公司),Agilent LCMS QQQ 6495(Agilent公司),XS205型电子分析天平(精度十万分之一,Mettler Toledo公司)。

谷胱甘肽(批号DSTDG024501,纯度≥98%)、胆酸(批号DSTDD04201,纯度≥98%)、谷氨酸(批号DST250515-330,纯度≥98%)、花生四烯酸(批号DST240119-142,纯度≥95%)、1-O-十六烷基-SN-甘油基-3-胆碱磷酸(批号DST250516-809,纯度≥98%)购自成都乐美天医药科技有限公司、DL-谷氨酰胺(批号MREE1410,纯度≥98%)购自成都瑞芬思生物科技有限公司。实验用水为娃哈哈蒸馏水,甲醇、乙腈、甲酸均为质谱纯(美国Fisher Chemical公司)。目标化合物及同位素内标的信息见表1。

表1 5种目标化合物及同位素内标信息

Table 1 Information of 5 target compounds and their isotope internal standard

Abbreviation	Compound	CAS No.	Formula	Molecular weight
GSH	谷胱甘肽	70-18-8	C ₁₀ H ₁₇ N ₃ O ₆ S	307.323
AA	花生四烯酸	506-32-1	C ₂₀ H ₃₂ O ₂	304.467
GA	谷氨酸	56-86-0	C ₅ H ₉ NO ₄	185.191
DL-Gln	DL-谷氨酰胺	585-21-7	C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₃	146.145
LPC(0-16:0)	1-O-十六烷基-SN-甘油基-3-胆碱磷酸	52691-62-0	C ₂₄ H ₅₂ NO ₆ P	481.647
STD	磺胺甲噁唑	723-46-6	C ₁₀ H ₁₁ N ₃ O ₃ S	253.278

雄性SD大鼠(220±10)g,购自广东省医学实验动物中心。全部实验在SPF级动物实验室内开展。本实验通过广东省第二中医院(广东省中医药工程技术研究院)动物伦理委员会审核,符合动物伦理要求(伦理编号:049363)。

1.2 标准溶液的配制

分别精密称取谷胱甘肽、谷氨酸、花生四烯酸、1-O-十六烷基-SN-甘油基-3-胆碱磷酸、DL-谷氨酰胺对照品适量,配制质量浓度为997.64~1 415.12 μg·mL⁻¹的对照品溶液,加入甲醇超声使其溶解,作为混合标准品溶液(含谷胱甘肽:997.64 μg·mL⁻¹、谷氨酸:1 415.12 μg·mL⁻¹、花生四烯酸:1 274.12

$\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、DL-谷氨酰胺: $1\ 142.68\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、1-O-十六烷基-SN-甘油基-3-胆碱磷酸: $1\ 287.99\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

精密称取内标物磺胺甲噁唑 $5.13\ \text{mg}$, 加甲醇溶解, 得到 $201.096\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的内标标准工作溶液, 经稀释得到 $1.03\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的内标工作液。

1.3 标准曲线和质控样品的配制

精密吸取上述混合标准溶液 $100\ \mu\text{L}$ 置于 $10\ \text{mL}$ 容量瓶中, 加入甲醇定容至刻度。随后使用甲醇逐级稀释, 制备不同浓度的混标工作液, LPC(0-16:0) 质量浓度约为 2 、 5 、 10 、 15 、 30 、 60 、 120 、 250 、 500 、 $1\ 000\ \text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, 其余4种成分约为 20 、 50 、 100 、 150 、 300 、 600 、 $1\ 200$ 、 $2\ 500$ 、 $5\ 000$ 、 $10\ 000\ \text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。LPC(0-16:0) 以 5 、 250 、 $500\ \text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 作为低、中、高3个不同浓度的质控样品, 其余4种成分以 50 、 $2\ 500$ 、 $5\ 000\ \text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 作为低、中、高3个不同浓度的质控样品。

精密吸取上述混标工作液和质控样品 $1\ \text{mL}$, 加入 $100\ \mu\text{L}$ 空白血清和 $400\ \mu\text{L}$ 预冷的甲醇/乙腈(1:1), 加入 $10\ \mu\text{L}$ 质量浓度为 $1\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的内标溶液, 涡旋、混合均匀, 置于 $-20\ ^\circ\text{C}$ 冰箱冷冻 $1\ \text{h}$ 后, 于 $4\ ^\circ\text{C}$ 离心机以 $12\ 000\ \text{r}/\text{min}$ 离心 $15\ \text{min}$, 取上清液, 氮气吹干。缓慢加入 $100\ \mu\text{L}$ 乙腈/水(1:1), 涡旋、混合均匀, 重复离心操作。取上清液, 氮气吹干, 加乙腈/水(1:1) 定容至 $1\ \text{mL}$ 。

1.4 动物造模

取 SPF 级雄性 SD 大鼠 24 只, 体质量为 $(200\pm 20)\ \text{g}$, 将大鼠随机分为空白对照组、模型组, 各组 12 只。适应性喂养 $7\ \text{d}$ 后, 采用环磷酰胺建立大鼠免疫缺陷模型, 环磷酰胺按 $20\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 腹腔注射, 首次加倍, 隔日 1 次, 连续 4 次, 空白组腹腔注射等体积的生理盐水。造模成功后腹主动脉取血, 置于采血管中, 待凝固后, $3\ 000\ \text{r}/\text{min}$ 离心 $10\ \text{min}$, 取上清液, 备用。

1.5 样品前处理

准确吸取 $100\ \mu\text{L}$ 上述 SD 大鼠血清, 加 $400\ \mu\text{L}$ 预冷后的甲醇/乙腈(1:1), 加入 $10\ \mu\text{L}$ 质量浓度为 $1\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的内标, 涡旋混匀, 置于 $-20\ ^\circ\text{C}$ 冰箱 $1\ \text{h}$ 后, 于 $4\ ^\circ\text{C}$ 离心机以 $12\ 000\ \text{r}/\text{min}$ 离心 $15\ \text{min}$, 取上清液, 氮气吹干。缓慢加入 $100\ \mu\text{L}$ 乙腈/水(1:1), 涡旋混匀, 重复离心操作。取 $10\ \mu\text{L}$ 上清液再次加入 $990\ \mu\text{L}$ 乙腈/水(1:1), 涡旋混匀 $1\ \text{min}$ 。

1.6 色谱条件

GSH、AA、GA、DL-Gln 的测定条件: 色谱柱为 ACQUITY Poroshell 120 SB-C₁₈ 色谱柱 ($2.1\ \text{mm}\times 100\ \text{mm}$, $2.7\ \mu\text{m}$); 流动相: 甲醇(A)- $5\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 乙酸铵水溶液(B); 梯度洗脱程序: $0\sim 1.0\ \text{min}$, 5% A; $1.0\sim 2.0\ \text{min}$, $5\%\sim 95\%$ A; $2.0\sim 9.1\ \text{min}$, $95\%\sim 5\%$ A; $9.1\sim 15.0\ \text{min}$, 5% A; 流速 $0.30\ \text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 柱温 $35\ ^\circ\text{C}$; 进样体积 $1\ \mu\text{L}$ 。

LPC(0-16:0) 的测定条件: 色谱柱为 ACQUITY UPLC BEH Amide 柱 ($2.1\ \text{mm}\times 150\ \text{mm}$, $1.7\ \mu\text{m}$); 流动相: 乙腈(A)- $5\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甲酸铵水溶液(B); 梯度洗脱程序: $0\sim 1.0\ \text{min}$, 10% A; $1.0\sim 5.0\ \text{min}$, $90\%\sim 60\%$ A; $5.0\sim 10\ \text{min}$, $60\%\sim 40\%$ A; $10\sim 10.1\ \text{min}$, 90% A; 流速 $0.30\ \text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 柱温 $35\ ^\circ\text{C}$; 进样体积 $1\ \mu\text{L}$ 。

1.7 质谱条件

电喷雾离子源(ESI), 质谱参数如下: 毛细管电压 $3\ 000\ \text{V}$ (正负离子), 干燥气温度 $200\ ^\circ\text{C}$, 干燥气流速 $15\ \text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 雾化气压力 $207\ \text{kPa}$, 鞘气温度 $350\ ^\circ\text{C}$, 鞘气流速 $11\ \text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。化合物的质谱参数见表2。

表2 5种目标化合物和内标的质谱参数

Table 2 Mass spectrometry parameters of 5 target compounds and their internal standard

Compound	Retention time/min	Precursor ion(m/z)	Quantitative ion(m/z)	CE/eV
GSH	0.715 1	308.1	179.0	13, 29
AA	4.119 7	303.2	259.2	13, 13
GA	0.757 0	148.1	84.1	17, 9
DL-Gln	0.807 8	147.1	84.1	9, 21
LPC(0-16:0)	6.366 6	482.4	104.1	25, 57
STD	2.981 0	254.1	156.0	17, 29

2 结果与讨论

2.1 测定条件的优化

内源性代谢物易受机体自身代谢物干扰,测定难度较大;而液质联用技术灵敏度高、分辨率好,通过优化色谱和质谱条件可达到较好的测定效果。为实现GSH、AA、GA、DL-Gln与LPC(0-16:0)的高灵敏度、准确度检测,先对5种化合物的极性特征进行评估。除LPC(0-16:0)外,其余4种化合物均为中等至低极性,适合使用传统的反相C₁₈柱进行分离;而LPC(0-16:0)由于其磷酸基团和长链烷基的双重特性,表现出显著的亲水性。初步使用ACQUITY Poroshell 120 SB-C₁₈柱对LPC(0-16:0)进行检测,观察到峰形显著拖尾、基线噪声增大且保留时间不稳定,主要原因是其极性磷酸基团与C₁₈键合相的疏水性相冲突,导致吸附过程不均匀。通过更换为酰胺基键合相色谱柱(ACQUITY UPLC BEH Amide),LPC(0-16:0)的峰形得到显著改善。该柱对极性磷酸基团具有更强的氢键和离子相互作用,从而实现了高效分离(见图1)。

所有目标化合物的质谱参数均通过注入其纯标准品溶液进行优化。首先在全扫描模式下确定母离子,随后进行子离子扫描以筛选丰度高、特异性强的特征碎片作为监测离子对,最后通过碰撞能量(CE)扫描优化各离子对的CE值,以获得最大响应。所设参数确保了MRM检测的高特异性和灵敏度,并已通过方法学验证。

2.2 线性关系、检出限与定量下限

将“1.3”的标准样品,按照上述色谱和质谱条件进行分析。以化合物与对应同位素内标的质量浓度比值为横坐标,以两者的峰面积之比为纵坐标,绘制标准曲线。结果显示,5种目标化合物在各自质量浓度范围内均呈良好的线性关系,相关系数(r)均大于0.995。检测低浓度加标(0.5 ng·mL⁻¹)血清样本,依照上述前处理方法平行处理6份,计算平均信噪比(S/N),按照 $S/N=3$ 计算检出限(LOD), $S/N=10$ 计算定量下限(LOQ)。5种目标化合物的LOD为0.043~0.178 ng·mL⁻¹,LOQ为0.145~0.592 ng·mL⁻¹(见表3)。

表3 5种目标化合物的线性方程、线性范围、相关系数(r)、检出限与定量下限

Table 3 Linear equations, linear ranges, correlation coefficients(r), LODs and LOQs of 5 target compounds

Compound	Linear equation	Linear range/(ng·mL ⁻¹)	r	LOD/(ng·mL ⁻¹)	LOQ/(ng·mL ⁻¹)
GSH	$Y=0.458316X-0.044999$	1.95~997.64	0.9997	0.043	0.145
AA	$Y=0.953033X+0.315844$	2.48~1274.12	0.9978	0.125	0.417
GA	$Y=3.666671X+32.514571$	2.76~1415.12	0.9955	0.067	0.223
DL-Gln	$Y=1.408172X+25.995207$	2.23~1142.68	0.9988	0.124	0.413
LPC(0-16:0)	$Y=125.118412X-2.922545$	2.5156~1287.99	0.9985	0.178	0.592

2.3 精密度和准确度

取“1.3”的质控样品,加入10 μL内标溶液后,按“1.5”样品前处理方法处理并进样测定。日内精密度通过同一样品在一天内连续测定6次并计算相对标准偏差(RSD)进行评价;日间精密度则通过同一样品每天测定3次,连续测定3 d并计算RSD进行评价。准确度以样品实测浓度与真实浓度的比值表示,结果见表4。各成分的日内和日间精密度RSD均低于10%,准确度分别为96.3%~108%(日内)和96.6%~107%(日间),表明本方法的精密度与准确度符合血样药物分析的要求。

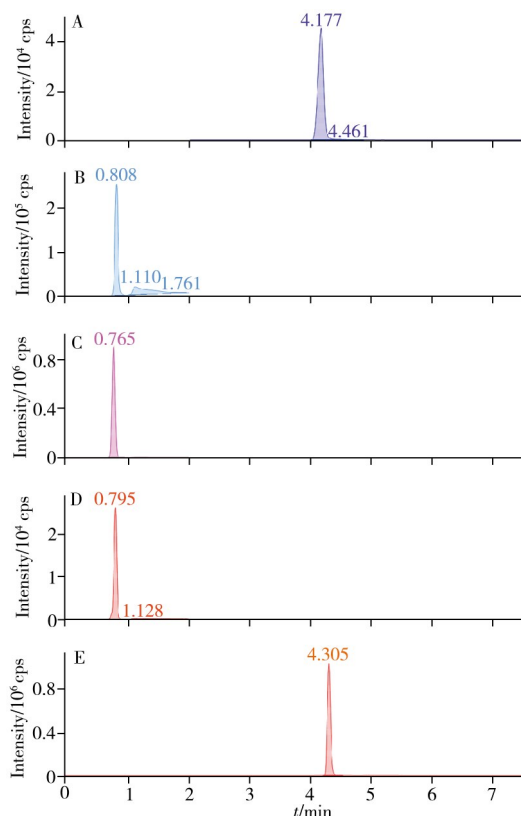


图1 5种代谢物的提取离子流图

Fig. 1 Extraction current ion chromatograms of five endogenous metabolites

A. AA; B. DL-Gln; C. GA; D. GSH; E. LPC(0-16:0)

表4 精密度和准确度结果
Table 4 Results of precision and accuracy

Compound	Concentration/(ng·mL ⁻¹)	Intra-day(<i>n</i> =6)		Inter-day(<i>n</i> =9)	
		Accuracy/%	Precision/%	Accuracy/%	Precision/%
GSH	50	108	3.7	107	9.2
	2 500	106	2.7	102	8.5
	5 000	98.9	2.2	100	9.2
AA	50	98.8	2.3	102	6.7
	2 500	96.3	2.6	105	8.9
	5 000	102	3.8	99.3	4.2
GA	50	106	3.1	100	5.6
	2 500	101	2.7	104	5.1
	5 000	97.4	5.9	103	3.8
DL-Gln	50	96.6	3.5	100	6.7
	2 500	100	3.0	106	7.5
	5 000	103	2.4	101	8.4
LPC(0-16:0)	5	101	4.8	98.7	6.1
	250	97.8	3.3	96.6	5.6
	500	104	4.3	101	4.6

2.4 提取回收率与基质效应

分别取低、中、高3个浓度的质控样品,每个浓度样品平行制备6份,按“1.5”样品前处理方法处理后进样,测定各成分的峰面积(*A*);取6份空白血清前处理后,加入质控样品和内标,按规定浓度定容后测定各成分的峰面积(*B*);用纯水代替空白血清制备3个浓度质控样品,测定各成分的峰面积(*C*)。计算提取回收率($A/B \times 100\%$)与基质效应($B/C \times 100\%$)。表5结果显示,3种浓度下各成分的提取回收率为75.1%~93.8%,基质效应为88.3%~103%,RSD均小于10%。表明该方法的提取回收率良好,无基质效应影响。

表5 提取回收率和基质效应结果(*n*=6)
Table 5 Results of recovery and matrix effect(*n*=6)

Compound	Concentration/(ng·mL ⁻¹)	Recovery		Matrix effect	
		Mean/%	RSD/%	Mean/%	RSD/%
GSH	50	76.3	6.9	93.6	4.3
	2 500	83.1	5.7	102	5.0
	5 000	84.3	8.0	95.3	5.3
AA	50	87.7	3.8	103	3.7
	2 500	90.3	6.9	101	4.7
	5 000	91.4	8.7	97.2	5.1
GA	50	85.2	6.3	90.9	6.8
	2 500	88.5	7.9	89.4	4.9
	5 000	79.6	3.5	98.4	4.8
DL-Gln	50	75.1	5.4	92.1	6.9
	2 500	82.9	8.0	90.6	3.4
	5 000	80.5	9.3	97.8	3.4
LPC(0-16:0)	5	93.8	6.5	102	6.0
	250	90.6	5.6	88.3	5.8
	500	87.6	7.9	93.4	6.4

2.5 稳定性

分别制备3个不同浓度的质控血样,分别进行室温25℃放置24h(室温稳定性)、-20℃冰箱冷冻后于25℃解冻反复操作3次(冻融稳定性)、-80℃冰箱保存30d(长期稳定性)、进样器中放置6h(储备液稳定性)考察。结果含量的RSD均小于15%,表明样品稳定。

2.6 大鼠血清样本含量测定

对正常组和模型组大鼠血清中的5种代谢物进行测定,比较组间样本目标化合物的含量差异,结

果见图2。与正常组相比,模型组血清中LPC(0-16:0)、DL-Gln、GA、GSH含量呈下降趋势,AA含量呈升高趋势,差异均具有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

3 结论

本研究建立了血清中5种内源性代谢物的UPLC-MS/MS定量测定方法,方法简便、快速、准确,适用于大量血清样本的测定。针对极性差异显著的化合物,分别采用 C_{18} 反相柱和BEH Amide亲水相柱,实现了全部目标分析物的最佳分离与定量。通过该方法的分析测定,可了解免疫功能低下时体内相关代谢物的变化规律,为后续探究治疗药物的作用机制提供了方法学基础。

参考文献:

- [1] Nicholson L B. *Essays Biochem.*, **2016**, 60(3): 275-301.
- [2] Wei H Q, Li M. *J. Hunan Univ. Chin. Med.* (卫华琴, 李苗. 湖南中医药大学学报), **2025**, 45(4): 624-630.
- [3] Wolf D, Ley K. *Circ. Res.*, **2019**, 124(2): 315-327.
- [4] Emadi A, Jones R J, Brodsky R A. *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, **2009**, 6(11): 638-647.
- [5] Jones S E, Collea R, Paul D, Sedlacek S, Favret A M, Gore I Jr, Lindquist D L, Holmes F A, Allison M A, Brooks B D, Portillo R M, Vukelja S J, Steinberg M S, Stokoe C, Crockett M W, Wang Y, Asmar L, Robert N J, O'Shaughnessy J. *Lancet. Oncol.*, **2013**, 14(11): 1121-1128.
- [6] Liu Z K, Ma J L, Li Y, Zheng N N, Sheng L L, Li H K. *Chin. J. Immunol.* (刘泽坤, 马俊丽, 李艳, 郑宁宁, 盛丽莉, 李后开. 中国免疫学杂志), **2024**, 40(8): 1701-1708.
- [7] Han X, Bai B Y, Zhou Q, Niu J H, Yuan J, Zhang H F, Jia J Y, Zhao W, Chen H. *Food Funct.*, **2020**, 11(7): 5992-6006.
- [8] Teles K A, Medeiros-Souza P, Lima F A, Araújo B G, Lima R A. *Rev. Bras. Reumatol. Engl. Ed.*, **2017**, 57(6): 596-604.
- [9] Zhong J F, Fang R J. *Chin. J. Immunol.* (钟金凤, 方热军. 中国免疫学杂志), **2016**, 32(10): 1541-1546.
- [10] Yang J H, Li C X, Zheng L Y, Zhang Y J, Tian W W, Tang B H, Yu D M, Liu L, Zhao J N, Hua H. *Pharmacol. Clin. Chin. Mater. Med.* (杨菊花, 李常学, 郑璐瑶, 张宇佳, 田韦韦, 唐碧华, 余东梅, 刘俐, 赵军宁, 华桦. 中药药理与临床), **2024**, 40(11): 34-40.
- [11] Li X M, Cao J, Wu F H. *Tradit. Chin. Med. Res.* (李小曼, 曹婕, 吴飞虎. 中医研究), **2024**, 37(3): 68-73.
- [12] Tredicine M, Mucci M, Recchiuti A, Mattoscio D. *FEBS Lett.*, **2025**, 599(7): 927-951.
- [13] Dröge W, Breitkreutz R. *Proc. Nutr. Soc.*, **2000**, 59(4): 595-600.
- [14] Desai R, Lin N M, Ayzenberg G, Venketaraman V. *Int. J. Mol. Sci.*, **2024**, 25(5): 2952-2967.
- [15] Verstichel G, Cheroutre H. *Immunity*, **2025**, 58(4): 781-794.
- [16] Slotte J P. *Prog. Lipid Res.*, **2013**, 52(4): 424-437.
- [17] Canè S, Geiger R, Bronte V. *Nat. Rev. Immunol.*, **2025**, 25: 266-284.
- [18] Ghezzi P. *Int. J. Gen. Med.*, **2011**, (2011): 105-113.
- [19] Bai X, Liao Y, Kang J, Zhang L Y, Ding S S. *Lishizhen Med. Mater. Med. Res.* (白雪, 廖颖, 康洁, 张凌媛, 丁珊珊. 时珍国医国药), **2025**, 36(12): 2378-2383.
- [20] Sanchez-Lopez E, Zhong Z, Stubelius A, Sweeney S R, Booshehri L M, Antonucci L, Liu-Bryan R, Lodi A, Terkeltaub R, Lecal J C, Murphy A N, Hoffman H M, Tiziani S, Guma M, Karin M. *Cell Metab.*, **2019**, 29(6): 1350-1362.
- [21] Cruzat V, Macedo R M, Noel K K, Curi R. *Newsholme P. Nutrients*, **2018**, 10(11): 1564.
- [22] Xu C, Gu L, Hu L, Jiang C, Li Q, Sun L, Zhou H, Liu Y, Xue H, Li J, Zhang Z, Zhang X, Xu Q. *Nat. Commun.*, **2023**, 14(1): 2042.

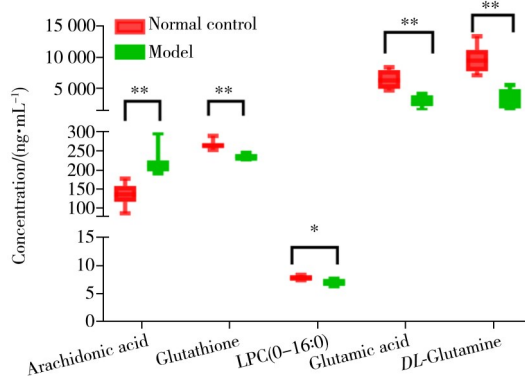


图2 正常组与模型组大鼠血清样本代谢物含量的测定结果

Fig. 2 Determination results of metabolite contents in serum samples of rats in the normal control group and model group compared with the control group, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$