

基于 UPLC/LTQ-Orbitrap-MS 技术的复方祖师麻片抗类风湿关节炎的血浆代谢组学研究

彭琳秀¹, 陈良慧¹, 狄留庆^{1,2*}, 单进军^{2,3}, 谢彤³, 康安^{1,2}, 徐牛生⁴

1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023
2. 江苏省中药高效给药系统工程技术研究中心, 江苏 南京 210023
3. 南京中医药大学第一临床医学院, 江苏 南京 210023
4. 赛默飞世尔科技(中国)有限公司, 上海 201206

摘要:目的 分析类风湿关节炎(RA)模型大鼠血浆内源性代谢物的变化,观察复方祖师麻片对异常代谢物的调节作用,从代谢组学的角度探究复方祖师麻片抗RA的作用机制。方法 将SD大鼠随机分为对照组、模型组、雷公藤多苷片(阳性药)组和复方祖师麻片组,以弗氏完全佐剂建立佐剂关节炎模型,雷公藤多苷片组和复方祖师麻片组分别ig给予雷公藤多苷片和复方祖师麻片,每天1次,连续31d,各组分别于造模前及造模后第1、10、20、28天采集血浆样本。采用基于UPLC/LTQ-Orbitrap-MS的代谢组学技术研究各组不同疾病时期代谢物的变化,分析药物的干预机制。结果 佐剂型关节炎引起体内氨基酸、脂类等多种代谢物紊乱。复方祖师麻片主要调控了其中12种异常代谢物的水平,对佐剂型关节炎的干预效果良好。结论 RA模型大鼠的多个小分子代谢物偏离正常状态,复方祖师麻片和雷公藤多苷片对模型大鼠干预效果相当,但两者改善异常代谢物的情况不同。复方祖师麻片主要通过下调继发性病变期溶血磷脂酰胆碱(LPC)的水平而达到治疗效果;雷公藤多苷片能有效抑制急性炎症期多种氨基酸代谢异常。

关键词: 复方祖师麻片; UPLC/LTQ-Orbitrap-MS; 代谢组学; 类风湿性关节炎; 生物标志物

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2017)10-1964-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.10.006

Plasma metabonomic study on Zushima Gancao Tablet in treatment of rheumatoid arthritis based on UPLC/LTQ-Orbitrap-MS

PENG Lin-xiu¹, CHEN Liang-hui¹, DI Liu-qing^{1,2}, SHAN Jin-jun^{2,3}, XIE Tong³, KANG An^{1,2}, XU Niu-Sheng⁴

1. College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China
2. Jiangsu Provincial TCM Engineering Technology Research Center of High Efficient Drug Delivery System (DDS), Nanjing 210023, China
3. The First Medicine College, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China
4. Thermo Fisher Scientific Inc., Shanghai 201206, China

Abstract: Objective To observe the regulating action of Zushima Gancao Tablet on abnormal metabolites by analyzing the changes of endogenous metabolites in plasma of rheumatoid arthritis (RA) rats, and to explore the mechanism of Zushima Gancao Tablet in treating RA from the perspective of metabonomics. **Methods** Rats were divided into normal group (NG), model group (MG), positive medicine group (PMG), and Zushima Gancao Tablet group (ZGG). Adjuvant arthritis (AA) rats were established with Freund complete adjuvant, rats in PMG and ZGG groups were ig administered with tripterygium glycosides and Zushima Gancao Tablet respectively for a month. Plasma samples were collected on days 1, 10, 20, and 28 before and after administration. UPLC/LTQ-Orbitrap-MS was applied to analyzing the metabolic profile changes of each group in different durations of the disease and mechanism of drug intervention. **Results** The related pathways of AA mainly involved metabolisms of amino acids, lipids, nucleic acids, and vitamins. Zushima Gancao Tablet had great effect on AA by regulating 12 biomarkers. **Conclusion** Small molecule metabolites in AA rats are

收稿日期: 2017-03-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81273655); 江苏省高校科技成果转化产业化推进项目(JHB2012-19)

作者简介: 彭琳秀(1992—), 女, 在读硕士。E-mail: 86745164@qq.com

*通信作者 狄留庆(1964—), 男, 博士生导师, 教授。Tel: (025)85811230 E-mail: diliuqing928@163.com

deviated from the normal ones. The effects of Zushima Gancao Tablet and positive medicine (tripterygium polyglycoside) on AA are similar, but the mechanisms were different. Zushima Gancao Tablet down-regulates the level of LPC in secondary lesions while tripterygium polyglycoside tablets could effectively inhibit the metabolisms of a variety of amino acids during acute inflammation.

Key words: Zushima Gancao Tablet; UPLC/LTQ-Orbitrap-MS; metabolomics; rheumatoid arthritis; biomarkers

类风湿关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 是一种全身性自身免疫性疾病, 高发于中老年妇女, 以慢性侵蚀性滑膜炎、骨结构破坏、致残率高为病变特点; 除了关节部位的病变, RA 还会影响心血管系统、神经系统、泌尿系统等, 严重危害人类身心健康^[1-2]。复方祖师麻片为实验室自制新型中药制剂, 由祖师麻和甘草配伍而成, 具有祛风除湿、活血止痛的功效, 前期研究表明祖师麻与甘草配伍能明显抑制 AA 大鼠血清中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β) 水平异常升高, 并且降低滑膜组织中血管内皮生长因子 (VEGF)、巨噬细胞游走抑制因子 (MIF) 的表达^[3]。

代谢组学是继基因组学、蛋白质学和转录组学发展起来的一门新的系统生物学技术, 在医药研究方面应用广泛^[4]。其以内源性代谢产物为考察对象, 通过质谱和核磁共振技术进行定性、定量分析, 结合单维和多维分析, 建立适合的数学模型, 研究疾病的发病过程和药物干预后疾病的发展趋势, 探讨药物对机体的作用^[5]。代谢组学反映了机体整体水平的代谢情况, 同时也是新型的药效评价系统。

近年来, 大量报道应用代谢组学研究 RA 的疾病特征和药物干预机制^[6-8]。本研究采用 UPLC/LTQ-Orbitrap-MS 通过对 RA 不同时期的血浆样品进行代谢组学分析, 描绘出疾病的动态发展过程; 通过比较对照组与模型组代谢谱的差异, 找出与疾病密切相关的潜在生物标志物; 并从体内代谢物水平改善的角度, 初步探讨复方祖师麻片抗 RA 的作用机制。

1 材料

1.1 试药与试剂

复方祖师麻片 (批号 20140605) 为实验室自制 (由祖师麻与甘草以 3 : 2 配伍制成, 制备方法参考本实验室前期申请的专利^[9])。复方中主要成分茴香素、甘草苷和甘草酸的量分别为 1.69、2.31、6.80 mg/片; 雷公藤多苷片 (批号 1305124B, 规格 10 mg/片) 购于浙江得恩德制药有限公司; 佐剂用卡介苗冻干粉 (批号 20130518, 规格 60 mg/支) 购于北京生物制品研究所; 液体石蜡 (批号 20070901, 规格

500 mL/瓶) 购于上海久亿化学试剂有限公司; 羊毛脂 (批号 20081201, 规格 500 g/瓶) 购于上海精析化工科技有限公司; 肝素钠 (批号 121010, 规格 2 mL/支, 12 500 单位/支) 购于常州千红生化制药股份有限公司; 替硝唑 (批号 100336-200703) 购于中国食品药品检定研究院, 经 HPLC 检测, 质量分数 $\geq 98\%$; 甲醇、乙腈 (色谱纯, Merck, 德国); 甲酸 (色谱纯, ROE, 美国); 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器

LTQ Orbitrap XL 型串联质谱仪 (美国 Thermo Fisher 公司); UltiMate 3000 型超高效液相色谱 (美国 Thermo Fisher 公司); CPA225D 型电子天平 (德国 Sartorius 公司); Allegra 64R 型离心机 (美国 Beckman Coulter 公司); Vortex-Genie 2 涡旋振荡器 (美国 Scientific Industries 公司); Revco UXF 型超低温冰箱 (美国 Thermo Fisher 公司); HWS26 型水浴锅 (上海一恒科技有限公司); SPD1010-230 型离心浓缩仪 (美国 Thermo Fisher 公司); KQ-500B 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); Millipore Synergy 型超纯水系统 (德国 Merck 公司)。

1.3 动物

雄性 SD 大鼠, 清洁级, 合格证号 SCXK (沪) 2012-0002, 40 只, 由上海斯莱克实验动物责任有限公司供应。适应性饲养 5 d 后, 开始进行动物实验, 饲养条件: 室温 20~26 °C, 相对湿度 40%~60%, 分笼饲养, 自由进食饮水。

2 方法

2.1 药品制备

2.1.1 弗氏完全佐剂 (FCA) 的制备 取适量液体石蜡和羊毛脂 (液体石蜡-羊毛脂 3 : 2), 搅拌后获得液体石蜡-羊毛脂混合溶剂; 取 2 支佐剂用卡介苗冻干粉, 80 °C 水浴灭活 0.5 h, 加入上述混合溶剂, 于研钵内研磨均匀, 获得含卡介苗 10 mg/mL 的弗氏完全佐剂混悬液, 4 °C 保存, 造模前取出, 120 °C 高压灭菌 30 min。

2.1.2 复方祖师麻片药液的制备 取复方祖师麻片若干, 研磨成细粉, 用生理盐水配制成生药量为 270

mg/mL 的复方祖师麻片混悬液, 4 °C 保存, 备用。

2.1.3 阳性药 (雷公藤多苷片) 药液的配制 取雷公藤多苷片若干, 研磨成细粉, 用生理盐水配制成质量浓度为 75 mg/mL 的雷公藤多苷片混悬液, 4 °C 保存, 备用。

2.1.4 内标溶液的配制 精密称取替硝唑 5 mg, 加入适量甲醇超声溶解并定容至 5 mL, 获得质量浓度为 1 mg/mL 的替硝唑储备液。再次精密吸取适量替硝唑储备液, 加甲醇稀释, 得到 25 μg/mL 的内标溶液, 4 °C 保存, 备用。

2.2 动物分组、造模与给药

将 SD 大鼠随机分为 4 组, 对照组、模型组、雷公藤多苷 (阳性药) 组和复方祖师麻片组, 每组 10 只; 除对照组外, 其余各组大鼠皮内注射 0.1 mL 弗氏完全佐剂致炎, 注射部位为左侧后足趾掌心处; 采用相同方法, 对照组大鼠相同部位注射等体积无菌生理盐水。各组于造模前 3 d 开始给药, 连续 31 d, 每天 1 次, 给药体积均为 10 mL/kg; 对照组 ig 给予生理盐水; 模型组 ig 给予生理盐水; 雷公藤多苷组 ig 给予 75 mg/mL 雷公藤多苷片药液 (750 mg/kg); 复方祖师麻片组 ig 给予 270 mg/mL 复方祖师麻片药液 (以祖师麻临床给药量的 2 倍量折算, 2 700 mg/kg)。

2.3 样本采集和预处理

于造模前、造模后第 1、10、20、28 天, 给药 1 h 后进行眼眶静脉丛采血, 每只大鼠收集 0.5 mL 的静脉血, 置于含有 10 μL 肝素钠的 EP 管中, 5 000 r/min 离心 6 min 后取上清, 制备血浆样品, 放置 -80 °C 中冷冻保存, 备用。

将制备的各组血浆样品 37 °C 快速解冻, 涡旋混匀后精密吸取 100 μL, 加入 10 μL 内标溶液, 涡旋振荡 1 min; 再加入 1 mL 的甲醇进行蛋白沉淀, 涡旋振荡 10 min 后, 16 000 r/min 离心 10 min, 吸取上清液, 放置离心浓缩仪中挥干, 剩余残渣用 100 μL 的甲醇水 (2 : 8) 溶液复溶, 17 000 r/min 再次高速离心 10 min, 吸取上清液进样。

2.4 分析条件

2.4.1 色谱条件 色谱柱为 Hypersil Gold-aQ 柱 (150 mm × 2.1 mm, 3 μm), 流动相为 0.02% 甲酸水溶液 (A) - 乙腈 (B), 梯度洗脱程序: 0~2 min, 95% A; 2~4 min, 95%~45% A; 4~23 min, 45%~40% A; 23~27 min, 40%~0 A; 27~28 min, 100% B; 28~32 min, 0~95% A; 32~34 min, 95% A;

体积流量 0.35 mL/min; 柱温 40 °C; 进样量 5 μL。

2.4.2 质谱条件 LTQ Orbitrap XL 型串联质谱仪, 采用正离子检测模式的 ESI 电离方式, *m/z* 采集范围为 80~1 000, 采集时间为 0~30 min。主要质谱参数: 毛细管温度 300 °C, 蒸发器温度 300 °C, 鞘气流 275 kPa, 辅助气流 104 kPa, 喷雾电压 3.5 V, 源电流 100 μA, 毛细管电压 35 kV, 管状透镜电压 100 V。

2.5 数据分析与处理

首先采用 SIEVE 1.3 软件对各组血浆样品的图谱进行色谱峰的对齐和提取; 再用仪器自带的 Xcilibur 软件对色谱峰进行量化处理, 即计算多个色谱峰与内标 (替硝唑) 的峰面积之比, 得到校正后的数据; 使用 Simca-p 13.0 软件建立主成分分析 (PCA) 和正交偏最小方差判别分析 (OPLS-DA) 模型, 对各组样本进行区分, 最终用 S-plot 以及 VIP 值来筛选差异性代谢物, 并通过单因素方差分析最终确定差异内源性成分。

3 结果

3.1 各组大鼠血浆总离子流图

对照组、模型组、雷公藤多苷片组和复方祖师麻片组的 LC-MS 总离子流图见图 1, 各组总离子流色谱图基本相似, 色谱峰保留时间集中在 1~22 min。

3.2 血浆代谢组学分析

采用 PCA 法对模型组大鼠造模前、造模后第 1、10、20、28 天的血浆样本进行分析, 从其得分图 (图 2) 中可以观察到从造模前到疾病初期, 再到高峰期, 最后到达疾病的稳定期, 模型组大鼠血浆中的代谢物逐步偏离正常, 提示造模成功。

从图 3 中不同时期 4 组样本的 OPLS-DA 分析结果可以看出雷公藤多苷片组与模型组在 4 个时间点均能很好地区分, 说明雷公藤多苷片用于预防和治疗 RA 的效果明显。而复方祖师麻片干预后, 在第 20 天和第 28 天与模型组区分较好; 第 28 天复方祖师麻片组和雷公藤多苷片组都能与模型组完全区分开, 而复方祖师麻片组较雷公藤多苷片组更接近对照组, 说明复方祖师麻片用于治疗 RA 能更明显地促进大鼠血浆中的小分子代谢物恢复到正常的水平。

3.3 潜在生物标志物的鉴定

对不同时间对照组与模型组进行 OPLS-DA 分析, 将变量重要性投影 (variable importance in projection, VIP) 值大于 1 以及 $P < 0.05$ 的代谢物视为与疾病密切相关的异常代谢物。非靶向性分析

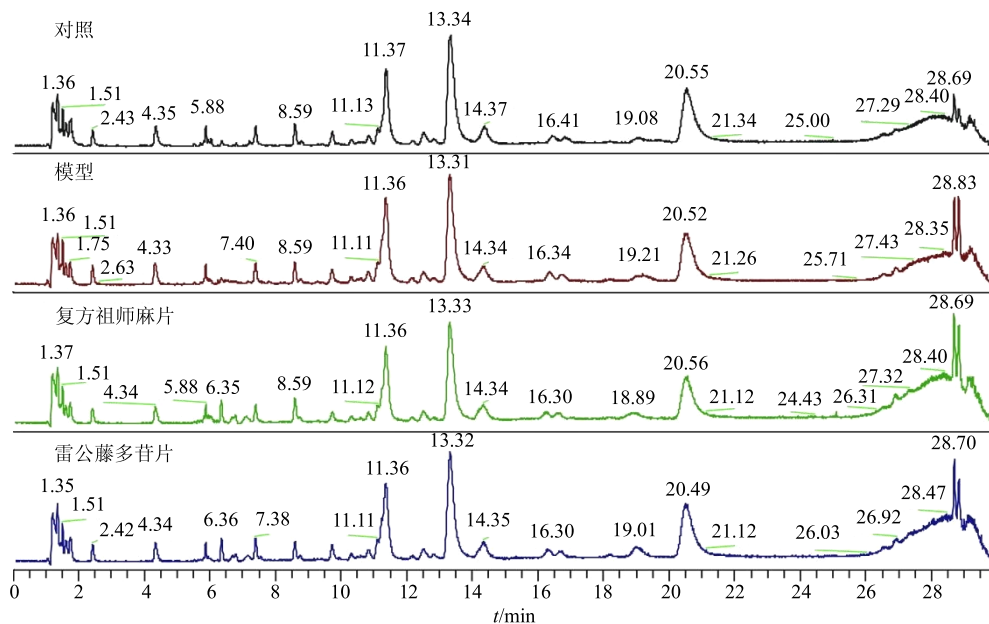
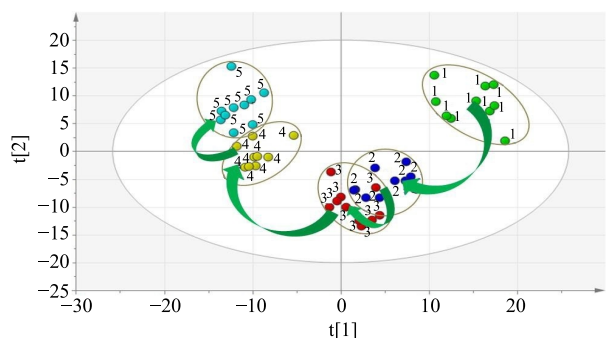


图 1 各组大鼠血浆的 TIC 图
Fig. 1 TIC of plasma of rats in each group



1-造模前的血浆样本 2-造模后第 1 天的血浆样本 3-造模后第 10 天的血浆样本 4-造模后第 20 天的血浆样本 5-造模后第 28 天的血浆样本

1-plasma sample before modeling 2-plasma sample in 1st day 3-plasma sample in 10th day 4-plasma sample in 20th day 5-plasma sample in 28th day

图 2 模型组病程变化的 PCA 得分图

Fig. 2 PCA score plot of MG rat plasma during course of disease

并筛选出了 87 个异常代谢物，作为生物标志物的候选。然后，根据 Xcalibur 中分子式推断（误差 1×10^{-5}），并查阅在线数据库（HMDB、KEGG、METLIN 和 SMPDB）和相关文献，共鉴定出 30 个潜在生物标志物，见表 1。

4 代谢通路分析

对鉴定的差异性代谢物通路的种类进行分析，发现佐剂型关节炎异常代谢物种类复杂多样，涉及

的代谢通路较多。其中脂类代谢有 17 个、氨基酸代谢有 9 个、嘧啶代谢有 2 个、烟酰胺代谢有 2 个。

原发性的病变期（造模后第 1 天到第 10 天），主要是氨基酸（如脯氨酸、缬氨酸和甲硫氨酸等）、嘧啶（胞嘧啶和脱氧胞苷）及烟酰胺（烟酰胺、N1-甲基-4-吡啶酮-3-甲酰胺）代谢紊乱，而继发性病变（造模后第 20 天到第 28 天）主要与脂类-溶血磷脂酰胆碱（lysophosphatidylcholine, LPC）的代谢异常有关。复方祖师麻片可以对其中 12 个生物标志物进行调控；其主要通过上调苯丙氨酸、肉豆蔻酸和 LPC (20 : 5)，并使 N1-甲基-4-吡啶酮-3-甲酰胺、乙酰肉碱、脱氧胞苷和 6 种溶血卵磷脂胆碱的浓度下调，使 RA 大鼠的内源性代谢物的水平得到改善。研究表明，包括 RA 在内的许多疾病^[10-12]的发生与氨基酸代谢异常有着密切联系，甚至发现体内氨基酸水平影响着疾病的疼痛程度，这是因为许多氨基酸介导了炎症因子的产生，例如：精氨酸是炎症因子 NO 的前体，某些抗风湿的药就是通过调节精氨酸的水平而达到治疗作用^[13]；妙四丸通过降低一些支链氨基酸水平来减轻 RA 大鼠关节炎症状^[14]。

LPC 是磷脂酰胆碱（phosphatidylcholine, PC）在磷脂酶 A2（phospholipase A2, PLA2）作用下的水解产物，在炎症中起着至关重要的作用^[15-16]，它也是低密度脂蛋白的氧化型产物。佐剂型关节炎继

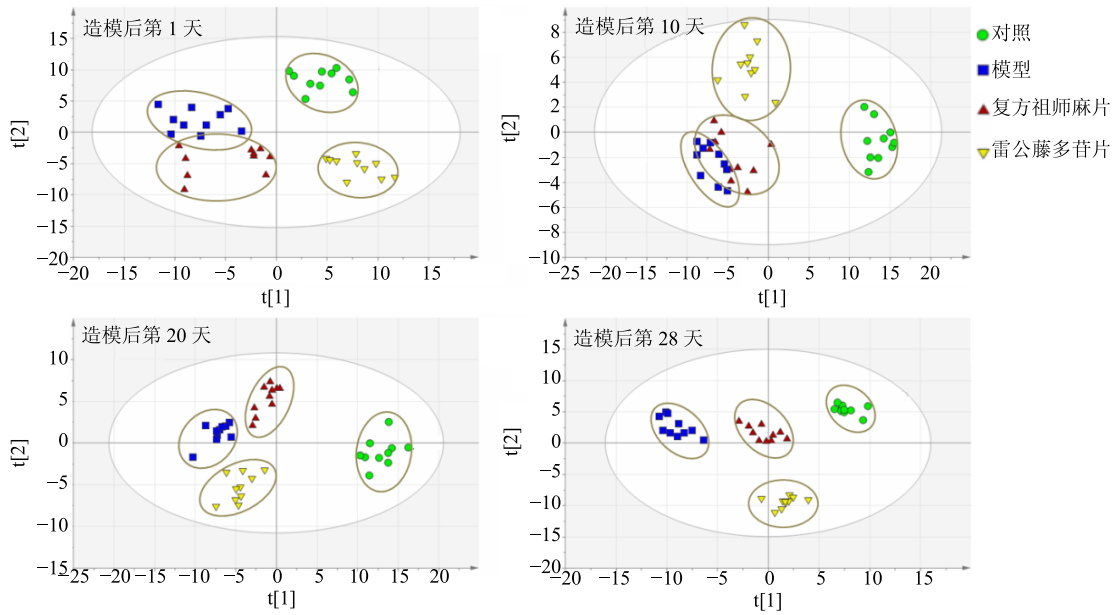


图 3 各组大鼠代谢模式随病程变化的 OPLS-DA 图

Fig. 3 OPLS-DA score plot of each group during course of disease

表 1 潜在生物标志物鉴定

Table 1 Identification of potential biological makers

生物标志物	t_R /min	m/z	样品	变化趋势		
				模型组 vs 对照	雷公藤多苷片组 vs 模型组	复方祖师麻组 vs 模型组
L-缬氨酸	1.24	140.067 4	a, b	↓**	↑	↑
L-脯氨酸	1.26	116.069 6	a	↑*	↓**	↓
肌酸	1.28	132.075 8	a, b	↓**	↑**	↑
L-左旋肉碱	1.30	162.111 4	b	↓**	↑	↑
肌酸酐	1.42	114.065 3	a	↑*	↓**	↓
L-乙酰肉碱	1.47	204.121 9	a, b, d	↑*	↓	↓**
L-甲硫氨酸	1.52	150.057 5	a	↓**	↑	↑
胞嘧啶	1.54	112.049 8	a, b	↑*	↓**	↓
L-酪氨酸	1.54	182.080 2	c, d	↓*	↓*	↓
脱氧胞苷	1.54	228.096 6	a, d	↑*	↓**	↓**
烟酰胺	1.69	123.054 3	a	↑*	↓**	↓
N_1 -甲基-4-吡啶酮-3-甲酰胺	1.71	175.046 6	a	↑**	↓**	↓*
丙酰肉碱	2.40	218.137 5	a	↓**	↑**	↑
L-苯丙氨酸	2.47	166.085 2	a, b, d	↓**	↑	↑**
L-色氨酸	4.42	205.096 0	b, c	↑**	↓	↓
马尿酸	5.52	180.064 3	a	↓**	↑**	↓
LPC (16 : 1)	10.29	494.321 8	b, c	↑*	↓	↓*
LPC (15 : 0)	11.12/18.14	482.322 2	b, c	↑**	↑	↓*
LPC (20 : 4)	11.20	544.337 5	c	↑*	↑	↓
LPC (18 : 2)	11.32	520.338 1	c, d	↑**	↓**	↓**
LPC (20 : 5)	11.33	542.321 2	b, c	↓**	↑	↑**
肉豆蔻酸	12.42	246.241 2	d	↓**	↑	↑**
LPC (16 : 0)	13.27	496.338 0	b, c	↑**	↑	↓
LPC (18 : 1)	14.30	522.353 0	c, d	↑*	↓*	↓**
LPC (20 : 2)	15.92	548.368 6	c	↑**	↓	↓**
LPC (17 : 0)	16.30	510.353 0	b, c	↑**	↑	↓**
棕榈酸	18.35	274.272 5	b, c, d	↓*	↑	↑
植物鞘氨醇	18.91	318.298 5	c, d	↓*	↑	↑
LPC (18 : 0)	20.40	524.368 5	b, c	↑**	↑	↓
LPC (20 : 3)	20.42	546.352 8	c	↑**	↓	↓

a 表示造模后第 1 天, b 表示造模后第 10 天, c 表示造模后第 20 天, d 表示造模后第 28 天; ↑表示上调, ↓表示下调; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$
 a-plasma sample on day 1, b-plasma sample on day 10, c-plasma sample on day 20, d-plasma sample on day 28; ↑-up-regulated, ↓-down-regulated; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

发性病变期伴随 LPC 的浓度升高, 促进巨噬细胞的增殖, 增强其吞噬能力, 增加炎症细胞的浸润, 导致炎症反应恶性循环。也有研究认为 RA 患者氧化应激水平和体内炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 水平的升高, 氧磷酶-1 (paraoxonase, PON1) 的 mRNA 表达下调; PON1 是一种抗氧化剂, 作用于巨噬细胞磷脂形成溶血卵磷脂胆碱^[17-18]。肉碱和乙酰肉碱是脂类代谢的中间产物, 在 (酰基) 酯酶 A 的作用下相互转化, 参与了能量代谢和氧化反应。已有研究报道, RA 患者血浆中肉碱的量低, 而乙酰肉碱的量却很高^[19-20]; 欧阳昕等^[21]应用 NMR 对 RA 患者血清中的代谢物进行了分析, 发现患者血清 N-乙酰- β -D-葡萄糖苷酶增多, 几种氨基酸 (缬氨酸、苯丙氨酸和酪氨酸等) 的水平有所下降, 提示蛋白分解代谢增强, 本实验研究结果与这些报道一致。

5 讨论

本研究采用代谢组学手段, 从内源性代谢物变化的角度初步探讨了 RA 的发病机制及复方祖师麻片抗 RA 的作用机制。基于 UPLC/LTQ-Orbitrap-MS 研究 RA 的血浆代谢组学, 发现疾病大鼠的代谢物变化与病程密切相关, 佐剂型关节炎大鼠血浆中氨基酸、脂类等多个物质代谢异常。本实验建立了稳定的 OPLS-DA 模型对对照组、模型组、雷公藤多苷片组和复方祖师麻片组进行区分, 雷公藤多苷片预防性给药 3 d 后, 能有效抑制急性炎症期多种氨基酸代谢的异常, 起效快, 有很好的预防作用。与雷公藤多苷片相比, 复方祖师麻片组在第 20 天后能与模型组完全区分, 说明复方祖师麻片的药效缓和, 其作用机制主要是调节 LPC 等 12 种异常代谢物的水平向正常状态逆转。综上所述, 复方祖师麻片对 RA 模型大鼠血浆造成紊乱的相关代谢具有调节作用, 为从内源性代谢物的角度研究复方祖师麻片的作用机制提供了依据。

参考文献

[1] 周 静, 张 弦, 钱海兵. 类风湿性关节炎发病机制的研究进展 [J]. 贵阳中医学院学报, 2014, 36(5): 44-47.

[2] 蔡文虹, 孙保东, 张宝凤, 等. 类风湿关节炎病因学概述 [J]. 中国当代医药, 2012, 19(5): 11-12.

[3] 张 雯, 贡 磊, 周玲玲, 等. 不同比例甘草配伍祖师麻抗大鼠佐剂关节炎的实验研究 [J]. 中草药, 2014, 45(10): 1418-1426.

[4] 贾 伟. 医学代谢组学 [M]. 上海: 上海科学技术

出版社, 2011.

- [5] 陆 艳, 周学平, 谢 彤. 类风湿性关节炎的代谢组学研究进展 [J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(10): 3585-3588.
- [6] Qi Y, Pi Z F, Liu S, *et al.* A metabonomic study of adjuvant-induced arthritis in rats using ultra-performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *Roy Soc Chem*, 2014(10): 2617-2625.
- [7] Zhang H W, Fu P, Ke B L, *et al.* Metabolomic analysis of biochemical changes in the plasma and urine of collagen-induced arthritis in rats after treatment with Huang-Lian-Jie-Du-Tang [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 154(1): 55-64.
- [8] Kapoor S R, Filer A, Fitzpatrick M A, *et al.* Metabolic profiling predicts response to anti-tumor necrosis factor therapy in patients with rheumatoid arthritis [J]. *Arthrit Rheum*, 2014, 65(6): 1448-1456.
- [9] 狄留庆, 张 雯, 陈良慧, 等. 祖师麻与甘草中药组合物、其制备方法及其在制备治疗类风湿性关节炎药物中的应用: 中国, CN 103463310 A [P]. 2013-12-25.
- [10] 李春雨, 王 平, 王 张, 等. 基于代谢组学技术的大黄治疗慢性肾功能衰竭的作用机制研究 [J]. 中草药, 2012, 43(2): 312-315.
- [11] 田俊生, 左亚妹, 孙海峰, 等. GC-MS 代谢组学分析逍遥散干预抑郁模型大鼠盲肠代谢物组的变化规律 [J]. 中草药, 2015, 46(13): 1931-1936.
- [12] Madsen R K, Lundstedt T, Gabrielsson J, *et al.* Diagnostic properties of metabolic perturbations in rheumatoid arthritis [J]. *Arthrit Res Ther*, 2011, 13(1): R19.
- [13] Smolenska Z, Ryszard T, Zdrojewski S Z. Plasma concentrations of amino acid and nicotinamide metabolites in rheumatoid arthritis-potential biomarkers of disease activity and drug treatment [J]. *Biomarkers*, 2016, doi:10.3109/1354750X.2015.1130746.
- [14] Wang Y M, Guo X J, Xie J B, *et al.* A GC-MS based metabonomics study of rheumatoid arthritis and the interventional effects of the simiaowan in rats [J]. *Molecules*, 2015, 20(12): 21364-21372.
- [15] Fuchs B, Bondzio A, Wagner U, *et al.* Phospholipid compositions of sera and synovial fluids from dog, human and horse: A comparison by 31P-NMR and MALDI-TOF MS [J]. *J Anim Physiol Anim Nutr*, 2009, 93(4): 410-422.
- [16] Fuchs B, Schiller J, Wagner U, *et al.* The phosphatidylcholine/lysophosphatidylcholine ratio in

- human plasma is an indicator of the severity of rheumatoid arthritis: Investigations by ^{31}P NMR and MALDI-TOF MS [J]. *Clin Biochem*, 2005, 38(10): 925-933.
- [17] 刘春丽, 蔡 辉. 类风湿关节炎患者对氧磷酶-1 活性变化与动脉粥样硬化形成 [J]. 现代医学, 2012, 40(2): 244-247.
- [18] Zhi G S, Wei Z, Yu S W, *et al.* Human paraoxonase gene cluster transgenic overexpression represses atherogenesis and promotes atherosclerotic plaque stability in ApoE-null mice [J]. *Circ Res*, 2009, 104(10): 1160-1168.
- [19] Kiziltunc A, Coğalgil S, Cerrahoğlu L. Carnitine and antioxidants levels in patients with rheumatoid arthritis [J]. *Scand J Rheumatol*, 1998, 27(6): 441-445.
- [20] Krähenbühl S, Willer B, Brühlmann P, *et al.* Carnitine homeostasis in patients with rheumatoid arthritis [J]. *Clin Chim Acta*, 1999, 279(1/2): 35-45.
- [21] 欧阳昕, 文锦丽, 彭武建, 等. 应用核磁共振技术对类风湿关节炎血清代谢物图谱研究 [J]. 中华临床免疫和变态反应杂志, 2011, 5(4): 283-287.