

基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 的马氏珍珠贝肉治疗再生障碍性贫血的药效物质基础研究

梁钰莹^{1,2,3,4,5}, 黄秋婷^{1,2,3}, 覃宁宁^{1,2,3}, 秦柳柳^{1,2,3,4}, 覃豪丽^{1,2,3,4}, 郝二伟^{2,3,4}, 杜正彩^{2,3,4}, 邓家刚^{2,3,4*}, 侯小涛^{1,2,3,4*}

1. 广西中医药大学药学院, 广西 南宁 530200
2. 广西中医药大学 广西中药药效研究重点实验室, 广西 南宁 530200
3. 广西中医药大学 中药资源循环利用广西高校工程研究中心, 广西 南宁 530200
4. 广西中医药大学 广西中医湿病方药理论与转化重点实验室, 广西 南宁 530200
5. 玉林市红十字会医院, 广西 玉林 537000

摘要: **目的** 探究马氏珍珠贝肉提取物 (*Pteria martensii* meat extract, PMME) 对再生障碍性贫血大鼠 (aplastic anemia, AA) 的治疗作用, 并对其入血成分进行表征鉴定。 **方法** 采用环磷酸胺和乙酰苯肼联合建立 AA 大鼠模型, 给予药物干预后, 考察 PMME 对 AA 大鼠外周血血细胞、骨髓有核细胞、骨髓形态变化及血清中肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、 γ 干扰素 (interferon- γ , IFN- γ)、促红细胞生成素 (erythropoietin, EPO) 水平和骨髓悬液中血管内皮细胞生长因子 A (vascular endothelial growth factor-A, VEGF-A)、血管内皮细胞黏附分子-1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1) 水平的影响。采用超高效液相色谱-四级杆-飞行时间串联质谱 (UPLC-Q-TOF-MS/MS) 技术对 PMME 进行定性分析, 并对比正常大鼠和 AA 大鼠 ig PMME 后的入血成分差异。 **结果** 与模型组比较, PMME 组大鼠外周血中红细胞、白细胞数量和血红蛋白水平明显升高 ($P < 0.01$), 血小板数量显著减少 ($P < 0.05, 0.01$), 血清中 TNF- α 、IFN- γ 、EPO 水平显著降低 ($P < 0.05, 0.01$), 骨髓悬液中 VEGF-A、VCAM-1 水平显著升高 ($P < 0.05$), 骨髓有核细胞数量显著增加 ($P < 0.05, 0.01$), 且大鼠骨髓破坏程度明显减轻。从 PMME 中鉴定出氨基酸类、核苷类、有机酸类、维生素类、嘌呤类、固醇类等 69 个成分, 其中主要化学成分为有机酸类、氨基酸类、核苷类。正常大鼠含药血浆中鉴定出缬氨酸、二十碳一烯酸、组氨酸、花生酸 4 个成分, AA 大鼠含药血浆中鉴定出苯丙氨酸、二十碳一烯酸、酪氨酸、癸二酸、亚油酸、棕榈酸、异亮氨酸 7 个成分。 **结论** PMME 对 AA 大鼠有明显的治疗作用, 能够有效改善 AA 大鼠的各项指标和骨髓破坏程度。PMME 的主要成分为有机酸类、氨基酸类及核苷类, 二十碳一烯酸、组氨酸以原型成分或代谢物形式入血, 可作为治疗 AA 大鼠的药效物质基础。

关键词: 马氏珍珠贝肉; UPLC-Q-TOF-MS/MS; 再生障碍性贫血; 分子对接; 二十碳一烯酸; 组氨酸

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)14-5379-17

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.14.003

Pharmacological substance basis of *Pteria martensii* meat in treatment of aplastic anemia based on UPLC-Q-TOF-MS/MS

LIANG Yuying^{1,2,3,4,5}, HUANG Qiuting^{1,2,3}, QIN Ningning^{1,2,3}, QIN Liuliu^{1,2,3,4}, QIN Haoli^{1,2,3,4}, HAO Erwei^{2,3,4}, DU Zhengcai^{2,3,4}, DENG Jiagang^{2,3,4}, HOU Xiaotao^{1,2,3,4}

1. School of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China
2. Guangxi Key Laboratory of Efficacy Study on Chinese Materia Medica, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China
3. University Engineering Research Center of Reutilization of Traditional Chinese Medicine Resources, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China

收稿日期: 2026-02-26

基金项目: 广西科技重大专项 (桂科 AA22117003); “尖峰”行动计划 (广西重大专项计划) 项目 (桂科 JF2503980037); 广西海洋中药资源及标准调研 [桂药监科 (2023) 001 号]

作者简介: 梁钰莹 (1998—), 女, 硕士研究生, 研究方向为海洋中药学。E-mail: 1040970474@qq.com

***通信作者:** 侯小涛, 教授, 研究方向为中药物质基础与质量控制研究。E-mail: xthou@126.com

邓家刚, 教授, 研究方向为中药基础理论与药效筛选研究。E-mail: dengjg53@126.com

4. Guangxi Key Laboratory of TCM Formulas Theory and Transformation for Damp Diseases, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China

5. Red Cross Hospital of Yulin City, Yulin 537000, China

Abstract: Objective To explore the therapeutic effect of *Pteria martensii* meat extract (PMME) on aplastic anemia (AA) rats and characterize its components entering the blood. **Methods** An AA rat model was established by combined administration of cyclophosphamide and acetylphenylhydrazine. After drug intervention, the effects of PMME on peripheral blood cells, bone marrow nucleated cells, bone marrow morphological changes, levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interferon- γ (IFN- γ), erythropoietin (EPO) in serum and levels of vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A), vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) in bone marrow suspension of AA rats were investigated. Ultra-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS/MS) was employed for the qualitative analysis of PMME, and the differences in components entering the blood between normal rats and AA rats after ig PMME were compared. **Results** Compared with model group, the numbers of red blood cells, white blood cells and hemoglobin level in peripheral blood of rats in PMME group were significantly increased ($P < 0.01$), the number of platelets was significantly decreased ($P < 0.05, 0.01$), the levels of TNF- α , IFN- γ and EPO in serum were significantly decreased ($P < 0.05, 0.01$), the levels of VEGF-A and VCAM-1 in bone marrow suspension were significantly increased ($P < 0.05$), the number of nucleated cells in bone marrow significantly was increased ($P < 0.05, 0.01$), and the degree of bone marrow destruction in rats was significantly reduced. A total of 69 components including amino acids, nucleosides, organic acids, vitamins, purines and sterols were identified from PMME, with the main chemical components being organic acids, amino acids, and nucleosides. Four components, namely valine, eicosaenoic acid, histidine, and arachidonic acid, were identified in the drug containing plasma of normal rats, while seven components, namely phenylalanine, eicosaenoic acid, tyrosine, sebacic acid, linoleic acid, palmitic acid, and isoleucine, were identified in the drug containing plasma of AA rats. **Conclusion** PMME has a significant therapeutic effect on AA rats and can improve various indicators and bone marrow damage in AA rats. The main components of PMME are organic acids, amino acids, and nucleosides, with eicosaenoic acid and histidine entering the bloodstream in the form of prototype components or metabolites, which can serve as the pharmacological substance basis for treating AA rats.

Key words: *Pteria martensii* (Dunker) meat; UPLC-Q-TOF-MS/MS; aplastic anaemia; molecular docking; eicosenoic acid; histidine

再生障碍性贫血 (aplastic anemia, AA) 是一种骨髓造血衰竭综合征, 骨髓造血细胞增生抑制及全血细胞减少是其主要特征, 在临床的主要表现为贫血、出血和感染。AA 的发展可分为 2 个阶段, 分别以免疫异常为主和骨髓衰竭为主, 而 AA 初发阶段以免疫异常为主, 多为肾阴虚型患者^[1]。治疗肾阴虚型 AA 则以滋阴补肾为主要治则^[2]。在中医理论体系中, AA 多归于“虚劳”“血虚”“血证”“急劳”“血枯”等范畴^[3], 中医治疗 AA 大多以补肾为主, 辅以健脾、活血化瘀、清热解毒法。传统西医治疗 AA 多采用免疫抑制剂、雄激素药物、干细胞移植, 但患者病情易反复, 且长期使用可产生不良反应^[4-9]。中医药治疗 AA 讲究辨证论治, 对症分型, 治养结合, 可减少不良反应, 且具有较好的临床疗效^[10-11]。据文献报道, 滋肾阴之药能够减轻 AA 患者的临床症状^[12]。马氏珍珠贝肉是珍珠贝科动物马氏珍珠贝 *Pteria martensii* (Dunker) 的全内脏, 收载于《广西中药材标准》(第二册), 其味甘、咸, 性凉, 具有清热、明目、滋阴、安神、解毒的功效^[13]。马氏珍珠贝肉主要化学成分包括氨基酸类、脂肪酸、多糖类、核苷类、微量元素及维生

素^[14-20], 具有抗高血压^[21-22]、抗肿瘤^[23-26]、抑菌^[27-30]、抗氧化^[31-35]、抗凝血^[36]、抗疲劳^[37]、解酒保肝^[38]等多种药理活性。中医认为, 贝类多具咸寒之性, 咸能入肾, 具有滋阴潜阳、益精填髓及清热的功效^[39-40]。因此, 马氏珍珠贝肉的“滋阴”特性与 AA “肾阴虚”的证型相契合, 可改善肾水不足、骨髓空虚的病理状态, 为其干预 AA 提供中医理论依据。近年来, 未见马氏珍珠贝肉治疗 AA 的药效研究, 也未见对其药效物质基础研究的相关报道。本研究首先考察马氏珍珠贝肉提取物 (*P. martensii* meat extract, PMME) 对 AA 大鼠的药效作用, 再采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术对正常大鼠和 AA 大鼠 ig PMME 后的含药血浆进行分析, 为确定马氏珍珠贝肉的药效物质基础提供实验依据。

1 材料

1.1 动物

SPF 级 SD 大鼠, 雌雄各半, 体质量 (200±20) g, 由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供, 许可证号 SCXK (湘) 2019-0004, 给予标准饲料常规饲养。动物实验经广西中医药大学动物伦理委员会批准 (批准号 DW20231016-197)。

1.2 药材

马氏珍珠贝肉产自广西北海市,经广西中医药大学黄勇教授鉴定为珍珠贝科动物马氏珍珠贝 *P. martensii* (Dunker) 的全内脏。

1.3 药品与试剂

环磷酰胺(批号 C15613743)购自上海麦克林生化科技股份有限公司;乙酰苯肼(批号 C12082402)购自上海麦克林生化科技股份有限公司;环孢素 A(批号 2210121,国药准字 H10960122)购自杭州中美华东制药有限公司;再造生血片(批号 Z20194066,国药准字 Z20194066)购自安徽雷上允药业有限公司;大鼠促红细胞生成素(erythropoietin, EPO) ELISA 试剂盒(批号 E-EL-R0007c);大鼠 γ 干扰素(interferon- γ , IFN- γ) ELISA 试剂盒(批号 E-EL-R0009c)、大鼠肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) ELISA 试剂盒(批号 E-EL-R2856c)、大鼠血管内皮细胞生长因子 A (vascular endothelial growth factor-A, VEGF-A) ELISA 试剂盒(批号 E-EL-R2603c)购自伊莱瑞特生物科技股份有限公司;大鼠血管内皮细胞黏附分子-1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1) ELISA 试剂盒(批号 MM-0174R1)购自江苏酶免实业有限公司;红细胞裂解液(批号 2307001)、PBS 缓冲液(批号 2309009)购自北京索莱宝科技有限公司;生理盐水(批号 H23052408)购自广西裕源药业有限公司。

1.4 仪器

ExionLC AC 型液相色谱仪、X500R 型 QTOF 质谱仪、SCIEX OS 2.0 数据处理软件(美国 SCIEX 公司);CPA225D 型万分之一天平(德国赛多利斯科学仪器北京公司);KQ-500DE 型数控超声仪(昆山市超声仪器有限公司);Hei-VAP 型旋转蒸发仪(德国 Heidolph 公司);TGL-16M 型台式高速冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司);X-200 型 Luminex 多功能流式点阵仪(美国 Luminex 公司);BC-5000Vet 型全自动血液分析仪(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司);BA210 型 Digital 数码三目摄像显微镜(麦克奥迪实业集团有限公司)。

2 方法

2.1 PMME 的制备

称取马氏珍珠贝肉粉末,加入 12 倍量水煮沸后煎煮 2 h,滤过;煎煮 3 次,合并滤液,60 $^{\circ}\text{C}$ 减压浓缩至稠膏,得 PMME。

2.2 动物分组、造模与给药

动物适应性饲养 7 d,随机分为对照组、模型组、环孢素 A (2.5 mg/kg)^[41]组、再造生血片 (0.59 mg/kg) 组和 PMME 高、中、低剂量 (18.51、12.34、6.17 g/kg, 分别相当于成人每日服用生药材 180、120、60 g^[41]) 组,每组 14 只,另随机选取 6 只大鼠作为正常给药 (PMME 剂量为 18.51 g/kg) 组。按照文献方法^[42]建立大鼠 AA 模型,除对照组和正常给药组外,其余大鼠第 1 天 sc 20 mg/kg 2%乙酰苯肼,第 4 天 sc 10 mg/kg 2%乙酰苯肼,2 h 后以及第 5~7 天 ip 20 mg/kg 环磷酰胺。对照组和正常给药组大鼠 sc 和 ip 等体积的生理盐水。造模 7 d 后眼眶取血,检测外周血中红细胞、白细胞、血小板数量和血红蛋白水平,与对照组比较有显著性差异,表明 AA 模型建立成功。造模成功后,各给药组 ig 相应药物 (10 mL/kg),对照组和模型组 ig 等体积的纯净水,1 次/d,连续给药 15 d。

2.3 PMME 对 AA 大鼠血清中 TNF- α 、IFN- γ 和 EPO 水平的影响

末次给药后,大鼠 12 h 内禁食不禁水,ip 10% 水合氯醛 (3 mL/kg) 麻醉后,腹主动脉取血,采血管室温放置 2 h,3 000 r/min 离心 10 min,分离血清,保存于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱。按照 ELISA 试剂盒说明书检测各组大鼠血清中 TNF- α 、IFN- γ 和 EPO 水平。

2.4 PMME 对 AA 大鼠外周血中红细胞、白细胞、血小板数量和血红蛋白水平的影响

采用全自动血液分析仪检测各组大鼠外周血中红细胞、白细胞、血小板数量和血红蛋白水平。

2.5 PMME 对 AA 大鼠骨髓悬液中 VEGF-A 和 VCAM-1 水平的影响

取大鼠右股骨,剔去肌肉,剪去股骨的两端,用无菌注射器吸取 10 mL 无菌 PBS 溶液并反复冲洗,直到骨头变白,用注射器注入离心管中,反复吹打,通过 200 目细胞网滤过,4 $^{\circ}\text{C}$ 、2 000 r/min 离心 10 min,取上清液。按照 ELISA 试剂盒说明书检测骨髓悬液中 VEGF 和 VCAM-1 水平。

2.6 PMME 对 AA 大鼠骨髓有核细胞数量的影响

取“2.5”项下骨髓悬液 1 mL 于新的 EP 管中,800 r/min 离心 5 min,收集细胞沉淀,加入红细胞裂解液,于冰上避光充分裂红 10 min,加入等体积 PBS 缓冲液终止裂红,4 $^{\circ}\text{C}$ 、800 r/min 离心 5 min,弃上清,PBS 重悬,用自动细胞计数仪检测骨髓有核细胞数量。

2.7 PMME 对 AA 大鼠骨髓细胞形态结构的影响

取大鼠左股骨,于 4%多聚甲醛固定液中固定,经脱钙、脱水、包埋、切片及苏木素-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色处理后,在显微镜下观察骨髓组织病理变化。

2.8 PMME 和含药血浆的成分分析

2.8.1 PMME 供试品溶液的制备 取适量 PMME 稠膏于蒸发皿中,蒸干,精密称取 100 mg 粉末,加 30 mL 50%甲醇,称定质量,超声提取 30 min,冷却后补足质量,摇匀,过 0.22 μm 微孔滤膜,即得供试品溶液。

2.8.2 血浆样品的制备 将正常给药组、对照组、模型组、PMME 高剂量组同组血浆混合,各吸取 1 mL,加入 3 倍量甲醇-乙腈(1:1)溶液沉淀蛋白,涡旋 3 min,4 $^{\circ}\text{C}$ 、15 000 r/min 离心 10 min,取上清液,经 0.22 μm 微孔滤膜滤过,氮气吹干至固状,残渣加入 200 μL 甲醇,超声 3 min,涡旋混匀 1 min,4 $^{\circ}\text{C}$ 、15 000 r/min 离心 10 min,吸取上清液进行分析。

2.8.3 色谱条件 Phenomenex inetex C_{18} 色谱柱(100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7 μm);流动相为乙腈(A)-0.1%甲酸水溶液(B),梯度洗脱:0~30 min,5%~95%A。体积流量 0.4 mL/min;进样量 3 μL ;柱温 40 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.8.4 质谱条件 电喷雾离子源;正、负离子模式下扫描;TOF MS 扫描范围为 m/z 100~1 500;正、负离子源电压分别为 5 500、-4 500 V;离子源温度 600 $^{\circ}\text{C}$;GS1 压力 55 psi(1 psi=6.895 kPa);GS2 压力 55 psi;气帘气压力 35 psi;母离子碰撞能量 -10 V;去簇电压 -80 V;子离子碰撞能量 -35 V。

2.8.5 马氏珍珠贝肉化学成分库的建立 采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 分析马氏珍珠贝肉的化学成分谱,结合数据库实现有效成分的定性表征,进而

阐明其发挥药效的物质基础。基于 CNKI、PubMed、谷歌学术等数据库筛选马氏珍珠贝肉相关的文献,对马氏珍珠贝肉的化学成分进行归纳总结,现关于马氏珍珠贝肉化学成分研究较少,因此结合 Natural Products HR-MS/MS 2.0、TCM MS/MS Library、Metabolite HR-MS/MS1.0 数据库共同匹配,搭建马氏珍珠贝肉化学成分库。

2.9 分子对接实验

为了确认马氏珍珠贝肉中的有效成分与疾病相关蛋白的结合潜力,运用分子对接技术预测药物的潜在治疗效果。从 PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)下载马氏珍珠贝肉中的有效成分,从 Uniprot 数据库(<https://www.uniprot.org/>)和 AlphaFold 数据库(<https://alphafold.ebi.ac.uk/>)下载蛋白质结构的 pdb 格式,通过 Pymol 软件将蛋白文件预处理,再通过 PyRx 软件进行配体与分子间相互作用的对接,获取结合能数据,利用 Pymol 进行可视化分析。

2.10 统计学分析

数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 GraphPad Prism 9.5 软件进行统计学分析。多组间的数据比较采用单因素方差分析,随后的多重比较采用事后检验。

3 结果

3.1 PMME 对 AA 大鼠外周血中红细胞、白细胞、血小板数量和血红蛋白水平的影响

如表 1 所示,与对照组比较,模型组大鼠外周血中白细胞、红细胞数量和血红蛋白水平显著降低($P<0.01$),血小板数量显著升高($P<0.01$);与模型组比较,各给药组大鼠外周血中白细胞、红细胞数量和血红蛋白水平均显著升高($P<0.01$),血小板数量显著减少($P<0.05$ 、0.01),表明 PMME 对 AA 大鼠外周血各项指标有明显的改善作用。

表 1 PMME 对 AA 大鼠外周血中红细胞、白细胞、血小板数量和血红蛋白水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Table 1 Effect of PMME on number of red blood cells, white blood cells, platelets and hemoglobin level in peripheral blood of AA rats ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量/(g $\cdot\text{kg}^{-1}$)	白细胞/($\times 10^9$ 个 $\cdot\text{L}^{-1}$)	红细胞/($\times 10^{12}$ 个 $\cdot\text{L}^{-1}$)	血小板/($\times 10^9$ 个 $\cdot\text{L}^{-1}$)	血红蛋白/(g $\cdot\text{L}^{-1}$)
对照	—	5.18 $\pm$ 0.67	7.91 $\pm$ 0.18	1 541.75 $\pm$ 68.44	157.00 $\pm$ 5.13
模型	—	2.69 $\pm$ 0.63 ^{##}	5.37 $\pm$ 0.26 ^{##}	2 043.13 $\pm$ 258.07 ^{##}	137.50 $\pm$ 3.70 ^{##}
PMME	18.51	5.43 $\pm$ 0.83 ^{**}	7.22 $\pm$ 0.33 ^{**}	1 713.25 $\pm$ 222.30 [*]	161.75 $\pm$ 5.55 ^{**}
	12.34	5.65 $\pm$ 0.61 ^{**}	7.11 $\pm$ 0.30 ^{**}	1 237.50 $\pm$ 117.77 ^{**}	161.00 $\pm$ 2.00 ^{**}
	6.17	4.77 $\pm$ 0.99 ^{**}	7.04 $\pm$ 0.13 ^{**}	1 144.13 $\pm$ 50.82 ^{**}	161.13 $\pm$ 3.40 ^{**}
环孢素A	2.5 $\times 10^{-3}$	5.65 $\pm$ 0.39 ^{**}	7.52 $\pm$ 0.28 ^{**}	1 689.88 $\pm$ 100.55 ^{**}	167.00 $\pm$ 4.75 ^{**}
再造生血片	5.9 $\times 10^{-3}$	5.70 $\pm$ 0.83 ^{**}	7.19 $\pm$ 0.34 ^{**}	1 484.00 $\pm$ 97.88 ^{**}	156.88 $\pm$ 4.42 ^{**}

与对照组比较: ^{##} $P<0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$, 表 2 同。

^{##} $P<0.01$ vs control group; ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ vs model group, same as table 2.

3.2 PMME 对 AA 大鼠血清中 TNF- α 、IFN- γ 和 EPO 水平的影响

如图 1 所示,与对照组比较,模型组大鼠血清中 TNF- α 、IFN- γ 和 EPO 水平明显升高 ($P<0.01$);与模型组比较,各给药组大鼠血清中 TNF- α 、IFN- γ 和 EPO 水平均显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01)。

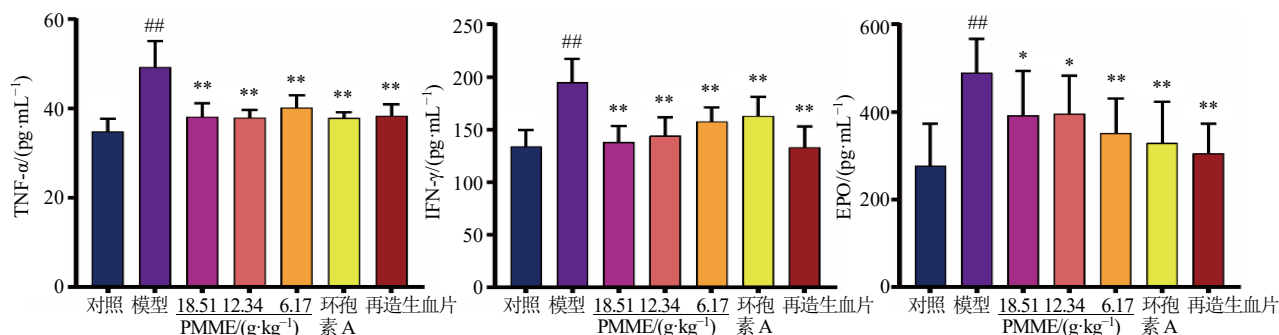
3.3 PMME 对 AA 大鼠骨髓悬液中 VEGF-A 和 VCAM-1 水平的影响

如图 2 所示,与对照组比较,模型组大鼠骨髓悬液中 VEGF-A 和 VCAM-1 水平显著降低 ($P<$

0.01);与模型组比较,PMME 高、中剂量组及环孢素 A 组和再造生血片组大鼠骨髓悬液中 VEGF-A 水平显著升高 ($P<0.05$),PMME 高剂量组和再造生血片组大鼠骨髓悬液中 VCAM-1 水平显著升高 ($P<0.01$)。

3.4 PMME 对 AA 大鼠骨髓有核细胞数量的影响

如表 2 所示,与对照组比较,模型组大鼠骨髓有核细胞数量显著减少 ($P<0.01$);与模型组比较,PMME 各剂量组和再造生血片组大鼠骨髓有核细胞数量显著增加 ($P<0.05$ 、 0.01)。



与对照组比较: ^{##} $P<0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$, 图 2 同。

^{##} $P<0.01$ vs control group; ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ vs model group, same as Fig. 2.

图 1 PMME 对 AA 大鼠血清中 TNF- α 、IFN- γ 和 EPO 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Fig. 1 Effect of PMME on levels of TNF- α , IFN- γ and EPO in serum of AA rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)

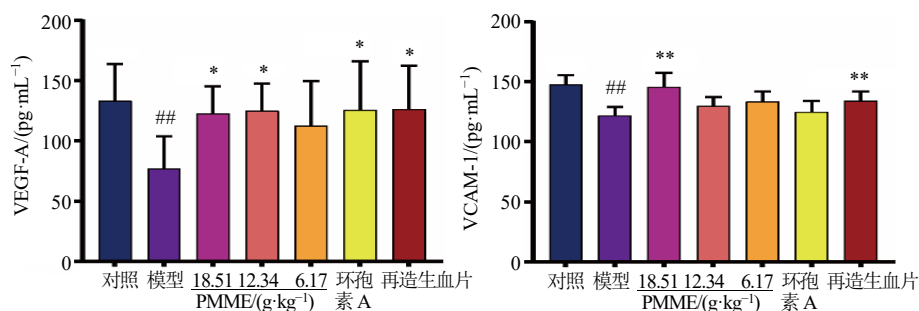


图 2 PMME 对 AA 大鼠骨髓悬液中 VEGF-A 和 VCAM-1 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Fig. 2 Effect of PMME on levels of VEGF-A and VCAM-1 in bone marrow suspension of AA rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)

表 2 PMME 对 AA 大鼠骨髓有核细胞数量的影响
($\bar{x} \pm s, n=8$)

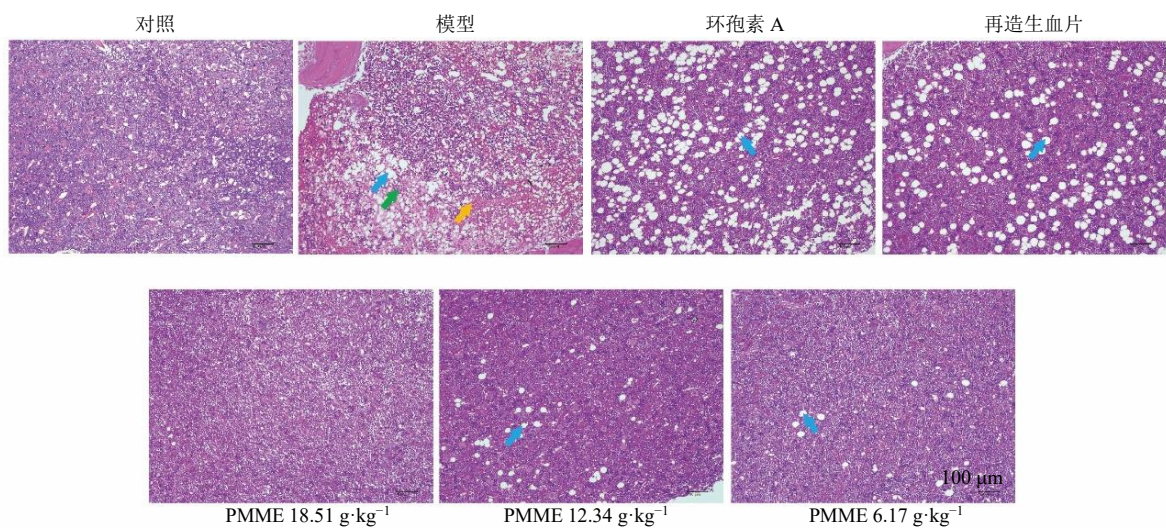
组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	骨髓有核细胞/($\times 10^6$ 个·L ⁻¹)
对照	—	3.41 $\pm$ 0.82
模型	—	1.53 $\pm$ 0.41 ^{##}
PMME	18.51	2.92 $\pm$ 0.63 ^{**}
	12.34	2.64 $\pm$ 1.04 [*]
	6.17	2.50 $\pm$ 0.73 ^{**}
环孢素 A	2.5 $\times 10^{-3}$	2.09 $\pm$ 0.82
再造生血片	5.9 $\times 10^{-4}$	2.25 $\pm$ 0.59 [*]

3.5 PMME 对 AA 大鼠骨髓细胞形态结构的影响

如图 3 所示,对照组大鼠骨髓腔内充满分布均匀的造血细胞,造血结构完整,不存在明显的脂肪细胞。模型组病理变化明显加重,骨髓细胞中度减少,大量脂肪泡、脂肪细胞和成熟红细胞增加。给予环孢素 A、再造生血片及 PMME 治疗后,大鼠骨髓中脂肪细胞较少,骨髓细胞未见明显减少。其中,PMME 高剂量组对骨髓破坏的改善程度最为明显。

3.6 PMME 化学成分鉴定表征

正、负离子模式下 PMME 的总离子流图见图



绿色箭头表示骨髓细胞减少，黄色箭头表示成熟红细胞增加，蓝色箭头表示脂肪细胞增加。
Green arrow indicates a decrease in bone marrow cells, yellow arrow indicates an increase in mature red blood cells, and blue arrow indicates an increase in adipocytes.

图 3 PMME 对 AA 大鼠骨髓细胞形态结构的影响 (HE, ×100)

Fig. 3 Effect of PMME on morphological structure of bone marrow cells in AA rats (HE, × 100)

4. 根据化合物一级、二级碎片离子信息及数据库匹配，PMME 中共鉴定出 69 个化学成分（表 3），包括氨基酸类及衍生物 12 个、核苷类化合物 11 个、有机酸类化合物 34 个、维生素类 3 个、嘌呤类化合物 3 个、固醇类化合物 1 个、醇氨类化合物 1 个、生物碱 2 个、香豆素衍生物 1 个、酮类 1 个。

对代表性成分苯丙氨酸、尿苷、壬二酸进行裂解分析。如图 5 所示，负离子模式下，化合物的保留时间为 1.25 min，一级质谱获得 m/z 164.071 8 $[M-H]^-$ 的质谱信号，二级质谱出现 m/z 147.045 7、103.056 2、72.008 7 质谱峰，根据数据库匹配出分子式为 $C_9H_{11}NO_2$ ，主要的二级碎片离子为 m/z 147.045 7 $[M-H-NH_3]^-$ 、103.056 2 $[M-NH_3-]$

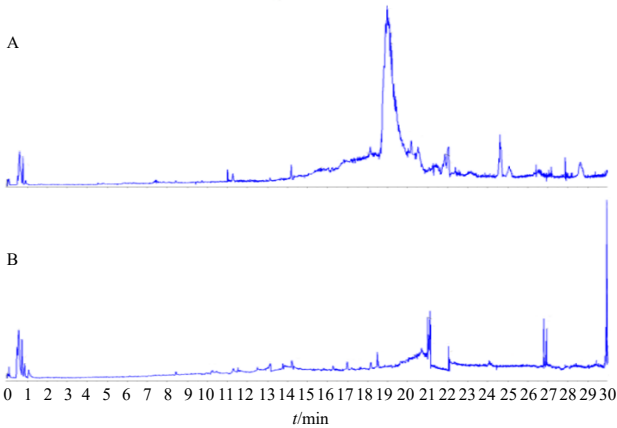


图 4 正 (A)、负 (B) 离子模式下 PMME 的总离子流图
Fig. 4 Total ion current diagram of PMME in positive (A) and negative (B) ion modes

表 3 PMME 中化学成分的鉴定

Table 3 Identification of chemical constituents in PMME

<i>t</i> _R /min	分子式	离子模式	相对分子质量 (<i>m/z</i>)		误差 (×10 ⁻⁶)	离子碎片 (<i>m/z</i>)	化合物	类型
			理论值	实测值				
0.61	C ₇ H ₇ NO ₂	[M+H] ⁺	138.054 9	138.054 8	-1.0	78.034 3, 138.055 7	邻氨基苯甲酸	有机酸类
14.37	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	[M+H] ⁺	165.091 1	165.091 2	0.9	91.055 2, 119.086 5, 137.061 0	2-苯基丁酸	有机酸类
14.37	C ₉ H ₁₀ O ₂	[M+H] ⁺	151.075 4	151.075 6	1.3	77.039 8, 105.071 2, 133.065 8	4-乙基苯甲酸	有机酸类
9.73	C ₁₀ H ₈ O ₃	[M+H] ⁺	177.054 6	177.055 3	3.9	65.039 7, 93.035 4, 149.025 6	4-甲基伞形酮	香豆素衍生物
0.58	C ₆ H ₅ NO ₃	[M+H] ⁺	140.034 2	140.034 4	1.2	60.081 4, 80.974 4, 98.986 2, 118.918 5, 144.106 7	6-羟基烟酸	有机酸类
19.54	C ₂₇ H ₄₄ O ₂	[M+H] ⁺	401.341 5	401.341 5	0.1	401.343 5	7-酮胆固醇	固醇类
0.81	C ₁₀ H ₁₄ N ₅ O ₇ P	[M+H] ⁺	348.070 4	348.071 0	1.8	119.035 3, 136.064 1, 348.221 7	一磷酸腺苷	核苷类
0.59	C ₆ H ₁₃ NO ₂	[M+H] ⁺	132.101 9	132.102 3	2.9	58.066 3, 59.074 0, 132.103 6	氨基己酸	氨基酸类
11.19	C ₉ H ₈ O ₂	[M+H] ⁺	149.059 7	149.059 8	0.8	65.039 9, 93.034 7, 121.031 1, 149.024 9	肉桂酸	有机酸类
18.43	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	[M+H] ⁺	283.263 2	283.263 9	2.6	83.086 8, 135.117 7	elaidic acid	有机酸类
0.86	C ₁₀ H ₁₄ N ₅ O ₈ P	[M+H] ⁺	364.065 3	364.066 7	3.8	135.032 7, 152.057 4, 164.998 5, 238.011 1, 364.154 8	鸟苷一磷酸	核苷类

表 3 (续)

<i>t_R</i> /min	分子式	离子 模式	相对分子质量 (<i>m/z</i>)		误差 ($\times 10^{-6}$)	离子碎片 (<i>m/z</i>)	化合物	类型
			理论值	实测值				
2.00	C ₁₁ H ₉ NO ₂	[M+H] ⁺	188.070 6	188.071 2	3.1	65.041 6, 118.066 8, 170.062 8	吡啶丙烯酸	有机酸类
0.70	C ₉ H ₁₇ NO ₄	[M+H] ⁺	204.123 1	204.123 5	2.1	60.082 3, 85.030 1, 145.052 1, 167.917 6, 204.126 2	L-乙酰基肉碱	氨基酸衍生物
0.55	C ₇ H ₁₅ NO ₃	[M+H] ⁺	162.112 5	162.111 4	-6.8	103.040 1, 162.113 8	左旋肉碱	氨基酸衍生物
0.57	C ₃ H ₉ NO ₄	[M+H] ⁺	148.060 4	148.061 1	4.7	61.086 0, 84.045 5, 113.074 0, 148.098 7	L-谷氨酸	氨基酸类
1.25	C ₉ H ₁₁ NO ₂	[M-H] ⁻	164.072 1	164.071 8	1.7	147.045 7, 103.056 2, 72.008 7	苯丙氨酸	氨基酸类
0.58	C ₃ H ₁₁ NO ₂	[M+H] ⁺	118.086 3	118.085 4	-7.6	58.065 1, 59.073 1, 118.086 7	L-缬氨酸	氨基酸类
0.81	C ₉ H ₁₁ NO ₃	[M+H] ⁺	182.081 2	182.081 6	2.2	59.933 9, 91.056 2, 109.065 9, 147.046 7	L-酪氨酸	氨基酸类
0.74	C ₆ H ₅ NO ₂	[M+H] ⁺	124.039 3	124.039 6	2.7	80.050 7, 124.042 2	烟酸	有机酸类
0.81	C ₉ H ₈ O ₃	[M+H] ⁺	165.054 6	165.055 2	3.5	67.055 2, 95.050 4, 123.046 0, 165.026 9	p-香豆酸	有机酸类
0.81	C ₉ H ₁₁ NO ₃	[M+H] ⁺	182.081 2	182.081 6	2.2	59.933 9, 91.056 2, 109.065 9, 147.046 7	邻酪氨酸	氨基酸类
10.91	C ₁₈ H ₃₉ NO ₂	[M+H] ⁺	302.305 3	302.305 3	-0.1	88.076 9, 188.088 3, 258.280 1, 302.306 8	鞘氨醇	醇氨类
0.96	C ₃ H ₆ N ₂ O ₂	[M+H] ⁺	127.050 2	127.050 7	3.8	67.937 8, 84.045 3, 110.025 7, 127.042 1	胸腺嘧啶	核苷类
0.69	C ₄ H ₄ O ₄	[M-H] ⁻	115.003 7	115.003 7	0.2	70.998 6	马来酸	有机酸类
0.79	C ₄ H ₄ N ₂ O ₂	[M+H] ⁺	113.034 5	113.034 8	2.4	70.029 7, 96.010 1, 113.035 3	尿嘧啶	核苷类
17.58	C ₂₇ H ₄₄ O	[M+H] ⁺	385.346 5	385.347 0	1.4	81.071 1, 385.180 1	维生素 D ₃	维生素类
0.75	C ₃ H ₄ N ₄ O	[M+H] ⁺	137.045 8	137.044 8	-7.2	55.029 8, 110.035 8, 119.036 3, 137.046 4	次黄嘌呤	嘌呤类
0.61	C ₇ H ₁₃ NO ₂	[M+H] ⁺	144.101 9	144.101 9	0	58.066 1, 84.082 0, 144.102 6	水苏碱	生物碱
0.58	C ₃ H ₁₁ NO ₂	[M+H] ⁺	118.086 3	118.085 4	-7.6	59.073 1	甜菜碱	生物碱
9.73	C ₆ H ₈ O ₆	[M+H] ⁺	177.039 4	177.039 6	1.3	65.039 7, 80.029 1, 121.030 5, 149.025 6	维生素 C	维生素类
0.53	C ₆ H ₉ N ₃ O ₂	[M+H] ⁺	156.076 7	156.077 6	5.6	56.049 8, 85.054 5, 83.062 8, 93.046 3, 110.072 6	组氨酸	氨基酸类
0.78	C ₃ H ₄ N ₄ O	[M-H] ⁻	135.031 2	135.031 2	-0.1	65.013 9, 92.025 7, 135.031 7	次黄嘌呤	嘌呤类
0.65	C ₃ H ₅ N ₅	[M+H] ⁺	136.061 7	136.062 2	3.4	65.014 7, 92.025 7, 119.036 9, 146.121 4	腺嘌呤 (维生素 B ₄)	维生素类
14.38	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	[M-H] ⁻	199.170 4	199.169 9	-2.5	65.996 6, 99.082 7, 135.049 3, 199.170 1	月桂酸	有机酸类
0.84	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	[M+H] ⁺	268.104 0	268.103 5	-2.0	119.036 9, 136.062 8	腺苷	核苷类
0.89	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₃	[M+H] ⁺	252.109 1	252.109 8	2.9	119.030 5, 136.063 8, 137.046 4, 174.996 6	3-脱氧腺苷	核苷类
0.89	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₅	[M+H] ⁺	284.099 0	284.099 2	0.8	110.036 2, 135.031 4, 152.057 5	鸟苷	核苷类
0.59	C ₆ H ₁₃ NO ₂	[M+H] ⁺	132.101 9	132.102 3	2.9	58.066 3, 59.074 0, 123.103 6	亮氨酸	氨基酸类
0.59	C ₆ H ₁₃ NO ₂	[M+H] ⁺	132.101 9	132.102 3	2.9	58.066 3, 59.074 0, 123.103 6	异亮氨酸	氨基酸类
0.64	C ₂ H ₇ NO ₃ S	[M-H] ⁻	124.007 4	124.006 8	-5.1	79.9560, 124.006 6	牛磺酸	氨基酸类
18.11	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	[M-H] ⁻	255.232 9	255.232 4	-2.1	255.232 1	棕榈酸	有机酸类
20.96	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	[M-H] ⁻	311.295 5	311.295 8	0.9	183.011 6, 311.168 1	花生酸	有机酸类
19.87	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	[M-H] ⁻	309.279 9	309.281 7	5.7	152.084 2, 209.154 8, 309.172 9	二十碳一烯酸	有机酸类
16.94	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	[M-H] ⁻	253.217 3	253.217 3	-0.1	116.928 4, 253.217 7	棕榈油酸	有机酸类
9.50	C ₁₃ H ₂₄ O ₄	[M-H] ⁻	243.160 2	243.159 6	-2.3	181.159 5, 225.149 0	1,11-十一碳二羧酸	有机酸类
8.79	C ₁₂ H ₂₄ O ₃	[M-H] ⁻	215.165 2	215.165 1	-0.6	215.168 7	12-羟基十二烷酸	有机酸类
14.93	C ₂₀ H ₂₈ O ₂	[M-H] ⁻	299.201 6	299.201 9	0.9	116.927 6, 185.010 1, 299.259 1	13-顺式维甲酸	有机酸类
0.80	C ₉ H ₁₂ N ₂ O ₆	[M-H] ⁻	243.062 3	243.062 3	0.0	82.029 8, 110.023 6	尿苷	核苷类
0.82	C ₄ H ₈ O ₃	[M-H] ⁻	103.040 1	103.040 1	0.0	59.013 7	3-羟基丁酸	有机酸类
8.79	C ₁₂ H ₂₄ O ₃	[M-H] ⁻	215.165 2	215.165 1	-0.6	215.168 7	3-羟基十二烷酸	有机酸类
0.66	C ₆ H ₆ N ₄ O ₂	[M-H] ⁻	165.041 8	165.040 7	-6.9	59.014 3, 75.008 7	7-甲基黄嘌呤	嘌呤类
0.87	C ₉ H ₁₆ O ₄	[M-H] ⁻	187.097 6	187.097 5	-0.3	97.064 7, 123.082 0, 125.097 5	壬二酸	有机酸类
8.39	C ₁₂ H ₂₂ O ₄	[M-H] ⁻	229.144 6	229.144 5	-0.3	167.144 1, 211.134 1	十二烷二酸	有机酸类
0.66	C ₃ H ₉ O ₆ P	[M-H] ⁻	171.006 4	171.006 7	1.8	78.958 5	3-磷酸甘油	核苷类
12.34	C ₁₆ H ₃₀ O ₄	[M-H] ⁻	285.207 1	285.207 2	0.2	78.957 7	十六烷二酸	有机酸类
0.80	C ₁₀ H ₁₂ N ₄ O ₅	[M-H] ⁻	267.073 5	267.073 0	-1.8	135.030 8	肌苷	核苷类
0.76	C ₆ H ₈ O ₇	[M-H] ⁻	191.019 7	191.019 9	1.0	111.009 7	异柠檬酸	有机酸类
0.91	C ₆ H ₁₂ O ₃	[M-H] ⁻	131.071 3	131.071 3	-0.3	69.034 3, 85.065 7	2-羟基-4-甲基戊酸	有机酸类
17.27	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	[M-H] ⁻	279.232 9	279.232 8	-0.4	126.905 5, 279.233 8	亚油酸	有机酸类
0.76	C ₃ H ₄ O ₄	[M-H] ⁻	103.003 7	103.003 8	1.2	59.013 7	丙二酸	有机酸类
6.65	C ₁₀ H ₁₈ O ₄	[M-H] ⁻	201.113 2	201.113 4	1.1	89.024 7, 139.112 7, 183.103 2	癸二酸	有机酸类
19.66	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	[M-H] ⁻	283.264 3	283.263 9	-1.3	283.263 4	硬脂酸	有机酸类
10.50	C ₁₄ H ₂₆ O ₄	[M-H] ⁻	257.175 8	257.175 7	-0.5	195.193 5, 239.165 7	十四烷二酸	有机酸类
22.21	C ₁₂ H ₂₀ O ₄	[M-H] ⁻	227.128 9	227.128 5	-1.7	68.995 9, 112.984 8, 139.112 6	愈伤酸	有机酸类
7.07	C ₁₁ H ₂₀ O ₄	[M-H] ⁻	215.128 9	215.128 9	0.1	79.957 4, 153.128 7, 197.118 3	十一烷二酸	有机酸类
0.68	C ₉ H ₁₃ N ₂ O ₉ P	[M-H] ⁻	323.028 6	323.028 3	-1.0	78.959 1, 211.001 1	尿苷酸	核苷类
0.76	C ₆ H ₈ O ₇	[M-H] ⁻	191.019 7	191.019 9	1.0	57.033 9, 111.009 7, 154.904 6	柠檬酸	有机酸类
14.72	C ₁₅ H ₂₂ O ₃	[M-H] ⁻	249.149 7	249.149 8	0.5	68.995 5, 112.985 5	甘松新酮	酮类
18.44	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	[M-H] ⁻	281.248 6	281.248 5	-0.5	281.248 6	油酸	有机酸类

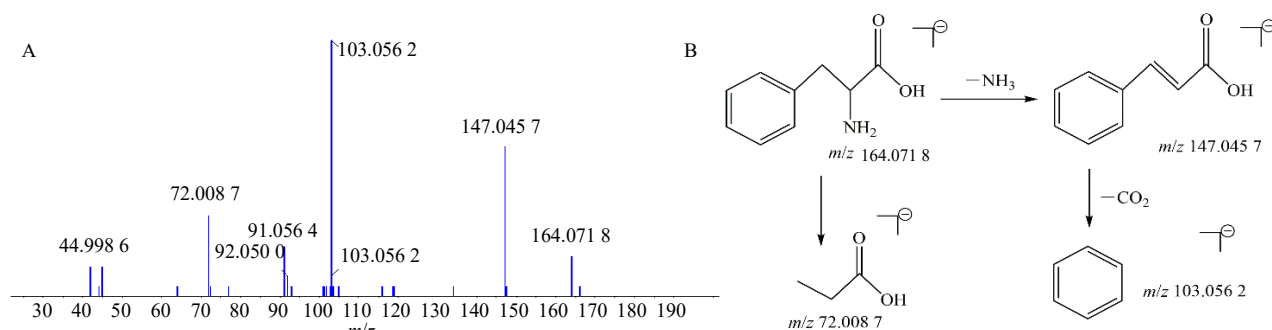


图5 苯丙氨酸的二级质谱图 (A) 及其可能的裂解途径 (B)

Fig. 5 Secondary mass spectrum of phenylalanine (A) and its possible cleavage pathway (B)

$\text{COOH}]^-$ 、72.008 7 $[\text{M}-\text{NH}_2-\text{C}_6\text{H}_5]^-$ ，其裂解的二级碎片与文献报道比对后^[43]，该化合物鉴定为苯丙氨酸。如图6所示，负离子模式下，化合物的保留时间为0.80 min，一级质谱获得 m/z 243.062 3 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 的质谱信号，二级质谱出现 m/z 110.023 6 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_5\text{H}_9\text{O}_4]^-$ 、82.029 8 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_5\text{N}]^-$ 的碎片离子，根据数据库匹配出分子式为 $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_6$ ，其裂解的二级碎片与文献报道比对后^[44]，该化合物鉴定为尿苷。如图7所示，负离子模式下，化合物的保留时间为0.87 min，一级质谱获得 m/z 187.097 5 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 的质谱信号，二级质谱出现 m/z 125.097 5 $[\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}_2]^-$ 、123.082 0 $[\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}_2-\text{H}_2]^-$ 、97.064 7 $[\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}_2-\text{C}_2\text{H}_4]^-$ 的

碎片离子，根据数据库匹配出分子式为 $\text{C}_9\text{H}_{16}\text{O}_4$ ，其裂解的二级碎片与文献报道比对后^[45]，该化合物鉴定为壬二酸。

3.7 PMME 在正常及 AA 大鼠中入血成分的鉴定与分析

将对照组、正常给药组、模型组、PMME 高剂量组血浆样品分别在正、负离子模式下进行分析，总离子流图见图8。将入血成分的精确相对分子质量、二级碎片等信息与PMME鉴定结果比对，若一致，则为原型入血成分。从正常给药组初步鉴定4个入血成分（表4），从PMME高剂量组初步鉴定出7个入血成分（表5），2组相同成分有1个（二十碳一烯酸）。

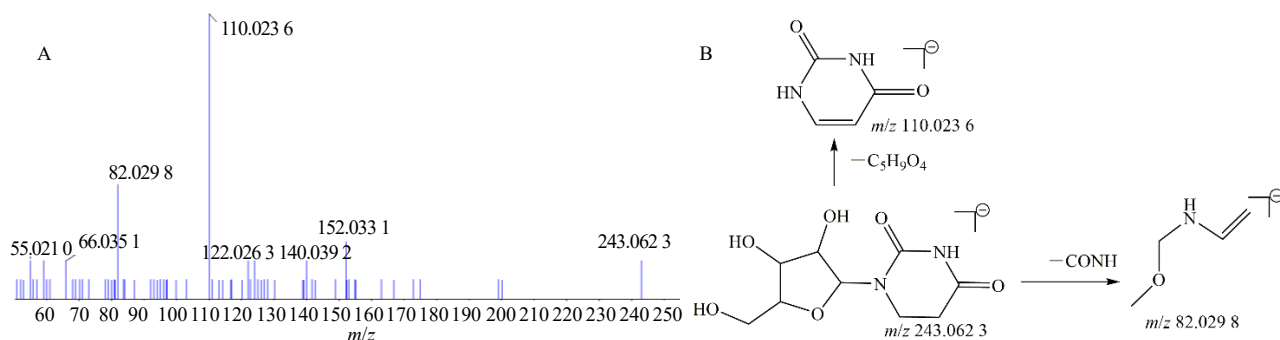


图6 尿苷的二级质谱图 (A) 及其可能的裂解途径 (B)

Fig. 6 Secondary mass spectrum of uridine (A) and its possible cleavage pathway (B)

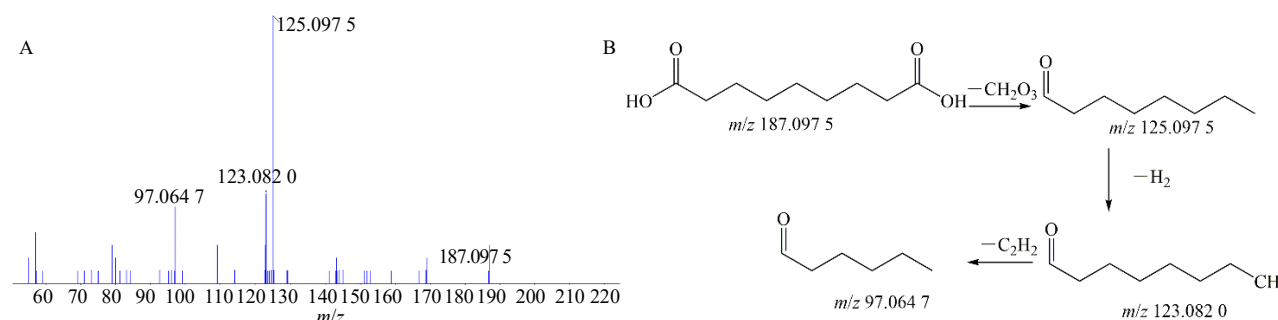


图7 壬二酸的二级质谱图 (A) 及其可能的裂解途径 (B)

Fig. 7 Secondary mass spectrum of azelaic acid (A) and its possible cleavage pathway (B)

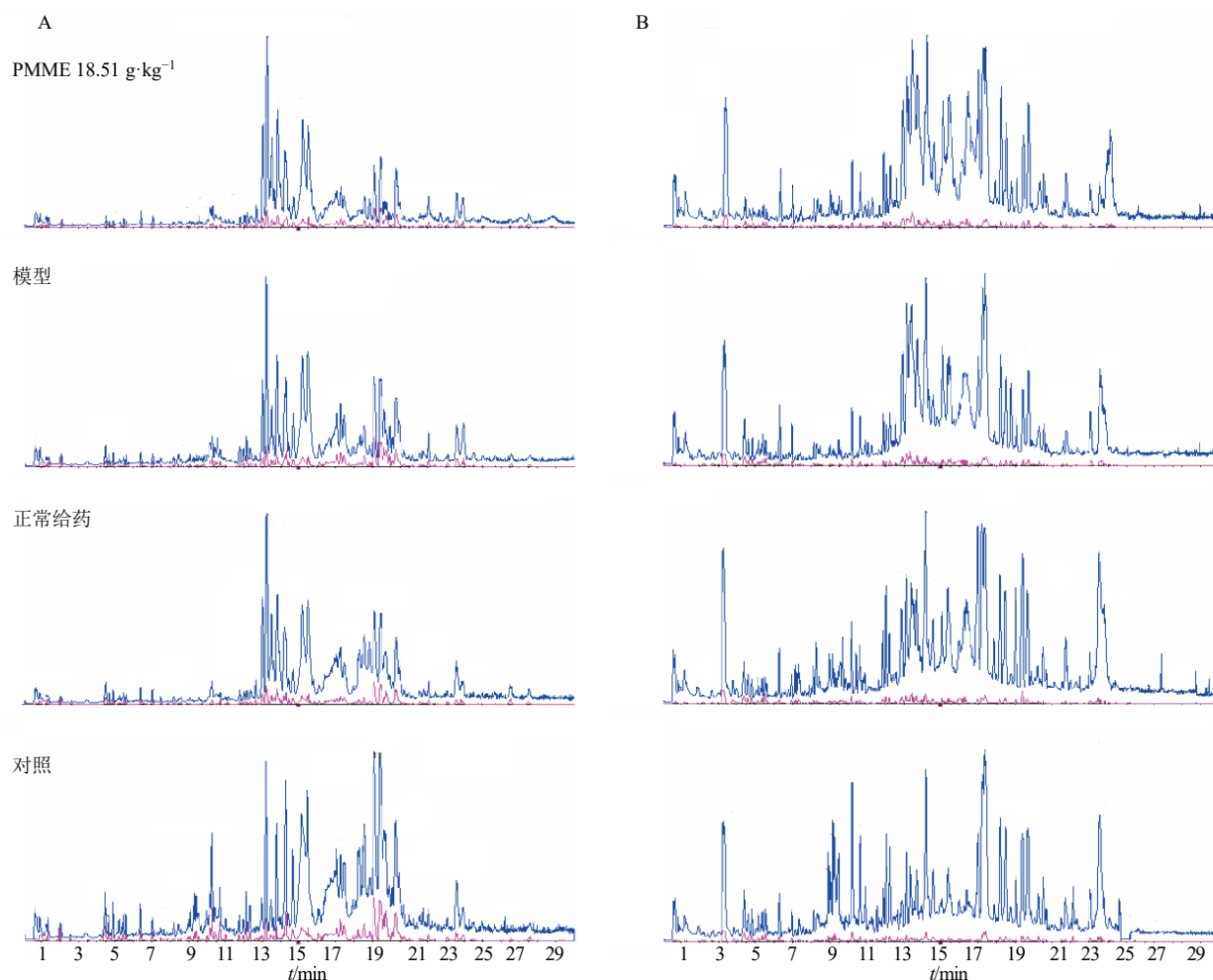


图 8 正 (A)、负 (B) 离子模式下 PMME 高剂量组、模型组、正常给药组、对照组血浆样本的总离子流图
Fig. 8 Total ion current chromatograms of plasma samples from PMME high-dose group, model group, normal administration group and control group in positive (A) and negative (B) ion modes

表 4 PMME 在正常大鼠中的入血成分鉴定结果

Table 4 Identification of components entering bloodstream from PMME in normal rats

t_R/min	分子式	离子模式	相对分子质量 (m/z)		误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子 (m/z)	成分	相对含量/%
			理论值	实测值				
0.97	$\text{C}_6\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_2$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	156.076 8	156.078 2	9.2	83.061 8, 93.046 3, 110.072 6	组氨酸	0.13
1.22	$\text{C}_5\text{H}_{11}\text{NO}_2$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	118.086 3	118.087 2	7.7	55.054 7, 58.065 8, 72.082 1	缬氨酸	2.56
20.70	$\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{O}_2$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	311.295 8	311.297 0	3.9	183.012 5, 311.295 9	花生酸	0.60
19.87	$\text{C}_{20}\text{H}_{38}\text{O}_2$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	309.280 3	309.281 0	2.2	309.280 3	二十碳一烯酸	1.97

表 5 PMME 在 AA 大鼠中的入血成分鉴定结果

Table 5 Identification of components entering bloodstream from PMME in AA rats

t_R/min	分子式	离子模式	相对分子质量 (m/z)		误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子 (m/z)	成分	相对含量/%
			理论值	实测值				
1.70	$\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_2$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	166.086 8	166.087 0	1.3	91.055 4, 103.053 7, 120.080 3	苯丙氨酸	8.25
19.87	$\text{C}_{20}\text{H}_{38}\text{O}_2$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	309.280 3	309.281 0	2.2	96.963 2, 209.154 3, 309.280 3	二十碳一烯酸	2.43
1.41	$\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_3$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	182.081 7	182.083 0	7.3	91.054 7, 95.050 2, 107.050 5, 119.050 6	酪氨酸	0.55
6.63	$\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}_4$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	201.113 7	201.115 0	6.5	139.113 3	癸二酸	0.11
1.42	$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_2$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	132.101 9	132.102 0	1.0	41.038 7, 44.049 3, 86.097 7	异亮氨酸	3.43
17.38	$\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_2$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	279.232 9	279.232 9	-0.1	279.929 9, 261.233 4	亚油酸	22.75
18.21	$\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_2$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	255.233 0	255.232 8	-0.8	237.223 3, 255.233 4	棕榈酸	16.83

正常给药组大鼠血浆中,化合物的保留时间为 0.97 min,在正离子模式下,得到 m/z 156.078 2 $[M+H]^+$ 的准分子离子峰,其二级碎片主要有 m/z 83.061 8 $[M+H-C_2H_3NO_2]^+$ 、93.046 3 $[M-NH_3-COOH]^+$ 、110.072 6 $[M-COOH]^+$,根据精确相对分子质量、二级质谱信息并和 PMME 鉴定结果比对^[46],该化合物鉴定为组氨酸,其二级质谱图见图 9,裂解途径见图 10。

正常给药组大鼠血浆中,化合物的保留时间为 1.22 min,在正离子模式下,得到 m/z 118.087 2 $[M+H]^+$ 的准分子离子峰,其二级碎片主要有 m/z 55.054 7 $[M+HCOOH-NH_3]^+$ 、58.065 8 $[M+HCOOH-CH_2]^+$ 、72.082 1 $[M+HCOOH]^+$,根据精确相对分子质量、二级质谱信息并和 PMME 鉴定结果比对^[43],该化合物鉴定为缬氨酸,其二级质谱图见图 9,裂解途径见图 10。

正常给药组大鼠血浆中,化合物的保留时间为 20.70 min,在负离子模式下,得到 m/z 311.297 0 $[M-H]^-$ 的准分子离子峰,由于长链饱和脂肪酸的碳链骨架具有极高的稳定性,其二级质谱主要表现为高丰度的未裂解母离子 m/z 311.295 9 $[M-H]^-$,这一现象符合饱和脂肪酸在负离子 LC-MS/MS 模式下的经典响应特征^[47]。根据该化合物的高分辨精确相对分子质量及上述特定的稳态质谱行为,并结合 PMME 前期化学成分鉴定结果比对与裂解规律文献报道^[48],该化合物鉴定为花生酸,其二级质谱图见图 9,裂解途径见图 10。

正常给药组和 PMME 高剂量组大鼠血浆中,化合物的保留时间为 19.87 min,在负离子模式下,得到 m/z 309.281 3 $[M-H]^-$ 的准分子离子峰,其二级碎片主要有 m/z 96.963 2 $[M-C_8H_{18}]^-$ 、209.154 3 $[M-C_7H_{15}]^-$ 、309.280 3 $[M-H]^-$,这种由双键位置决定的特定裂解规律,与文献报道的不饱和脂肪酸串联质谱特征高度吻合^[49]。基于该化合物的高分辨精确相对分子质量及双键特征碎片信息,并结合前期 PMME 的脂质组学鉴定结果^[50]进行综合比对,该化合物鉴定为二十碳一烯酸,其二级质谱图见图 9,裂解途径见图 10。

PMME 高剂量组大鼠血浆中,化合物的保留时间为 1.70 min,在正离子模式下,得到 m/z 166.087 0 $[M+H]^+$ 的准分子离子峰,其二级碎片主要有 m/z 91.055 4 $[M+H-COOH-CH-NH_3]^+$ 、103.053 7 $[M-COOH-NH_3]^+$ 、120.080 3 $[M-COOH]^+$,根据

精确相对分子质量、二级质谱信息并和 PMME 鉴定结果比对^[43],该化合物鉴定为苯丙氨酸,其二级质谱图见图 9,裂解途径见图 10。

PMME 高剂量组大鼠血浆中,化合物的保留时间为 1.41 min,在正离子模式下,得到 m/z 182.083 0 $[M+H]^+$ 的准分子离子峰,其二级碎片主要有 m/z 119.050 6 $[M+H-COOH-NH_3]^+$ 、95.050 2 $[M-C_3H_4NO_2]^+$ 、91.054 7 $[M-C_3H_8NO_2]^+$,根据精确相对分子质量、二级质谱信息并和 PMME 鉴定结果比对^[43],该化合物鉴定为酪氨酸,其二级质谱图见图 9,裂解途径见图 10。

PMME 高剂量组大鼠血浆中,化合物的保留时间为 6.63 min,在负离子模式下,得到 m/z 201.115 2 $[M-H]^-$ 的准分子离子峰,其二级碎片主要有 m/z 139.113 3 $[M-H-H_2O-CO_2]^-$,根据精确相对分子质量、二级质谱信息并和 PMME 鉴定结果比对^[51],该化合物鉴定为癸二酸,其二级质谱图见图 9,裂解途径见图 10。

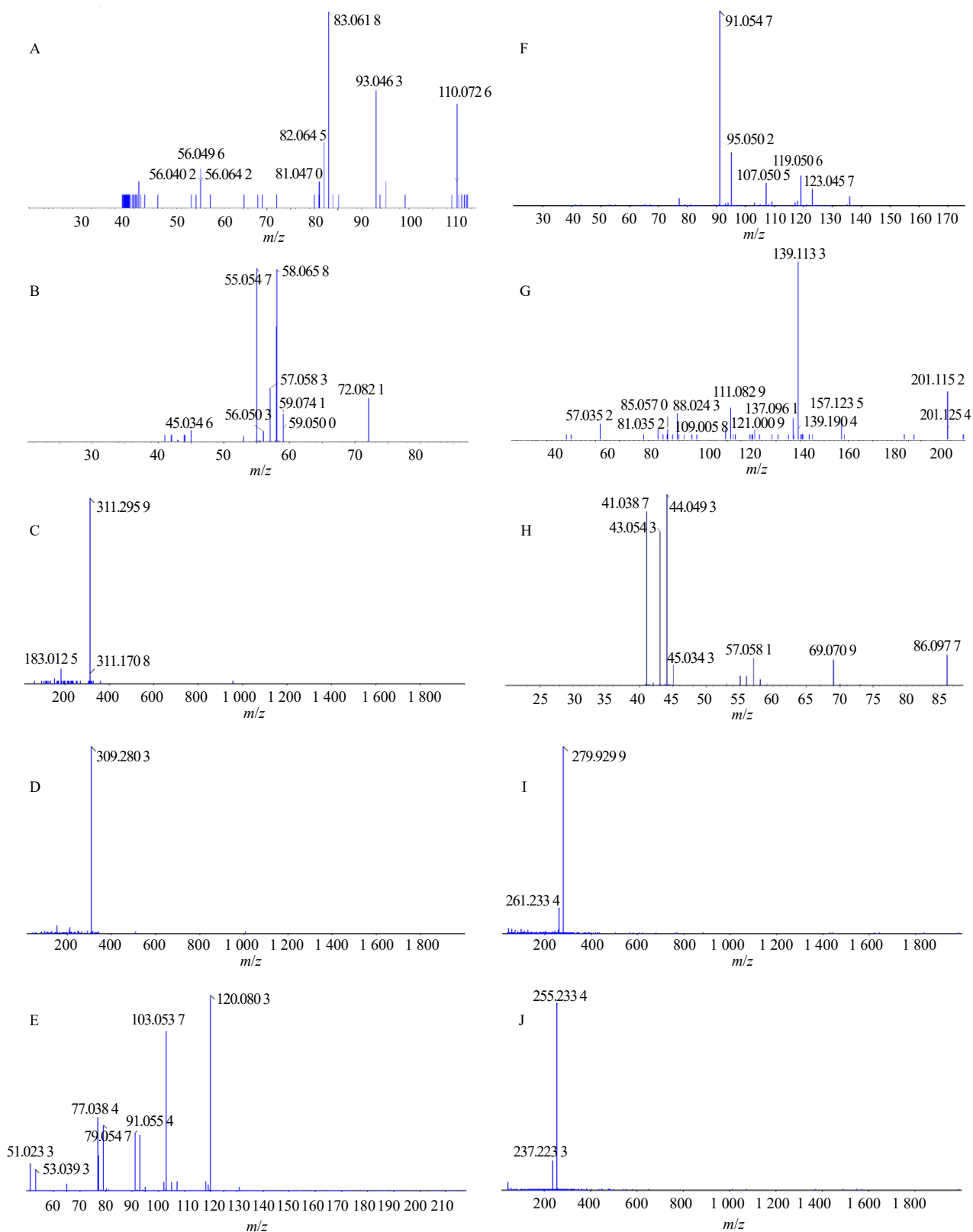
PMME 高剂量组大鼠血浆中,化合物的保留时间为 1.42 min,在正离子模式下,得到 m/z 132.102 0 $[M+H]^+$ 的准分子离子峰,其二级碎片主要有 m/z 41.038 7 $[M-H-CO_2-C_2H_6N]^-$ 、44.049 3 $[M-H-CO_2-C_2H_6]^-$ 、86.097 7 $[M-H-CO_2]^-$,根据精确相对分子质量、二级质谱信息并和 PMME 鉴定结果比对^[52],该化合物鉴定为异亮氨酸,其二级质谱图见图 9,裂解途径见图 10。

PMME 高剂量组大鼠血浆中,化合物的保留时间为 17.38 min,在负离子模式下,得到 m/z 279.232 9 $[M-H]^-$ 的准分子离子峰,其二级碎片主要有 m/z 261.233 4 $[M-H]^-$ 、279.929 9 $[M-H]^-$,根据精确相对分子质量、二级质谱信息并和 PMME 鉴定结果比对^[52],该化合物鉴定为亚油酸,其二级质谱图见图 9,裂解途径见图 10。

PMME 高剂量组大鼠血浆中,化合物的保留时间为 18.21 min,在负离子模式下,得到 m/z 255.232 8 $[M-H]^-$ 的准分子离子峰^[53],其二级碎片主要有 m/z 237.223 3 $[M-H-H_2O]^-$ 、255.233 4 $[M-H]^-$,根据精确相对分子质量、二级质谱信息并和 PMME 鉴定结果比对^[52],该化合物鉴定为棕榈酸,其二级质谱图见图 9,裂解途径见图 10。

3.8 基于分子对接探究 PMME 的活性成分与核心靶点的结合能力

基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 鉴定的入血原型成



A-组氨酸; B-缬氨酸; C-花生酸; D-二十碳一烯酸; E-苯丙氨酸; F-酪氨酸; G-癸二酸; H-异亮氨酸; I-亚油酸; J-棕榈酸。

A-histidine; B-valine; C-arachidonic acid; D-eicosatetraenoic acid; E-phenylalanine; F-tyrosine; G-decanedioic acid; H-isoleucine; I-linoleic acid; J-palmitic acid.

图 9 PMME 入血成分的二级质谱图

Fig. 9 Secondary mass spectrum of PMME entered blood components

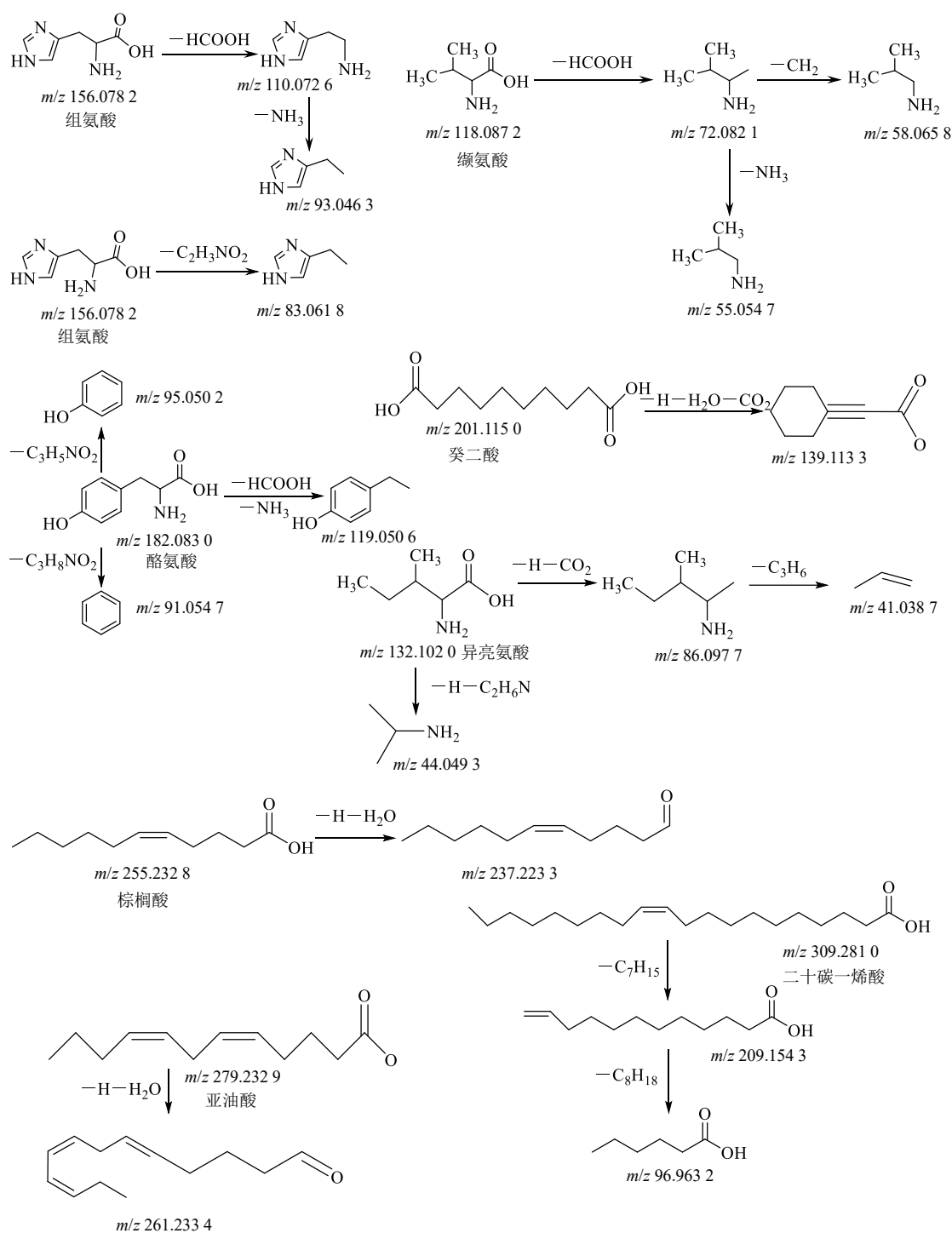
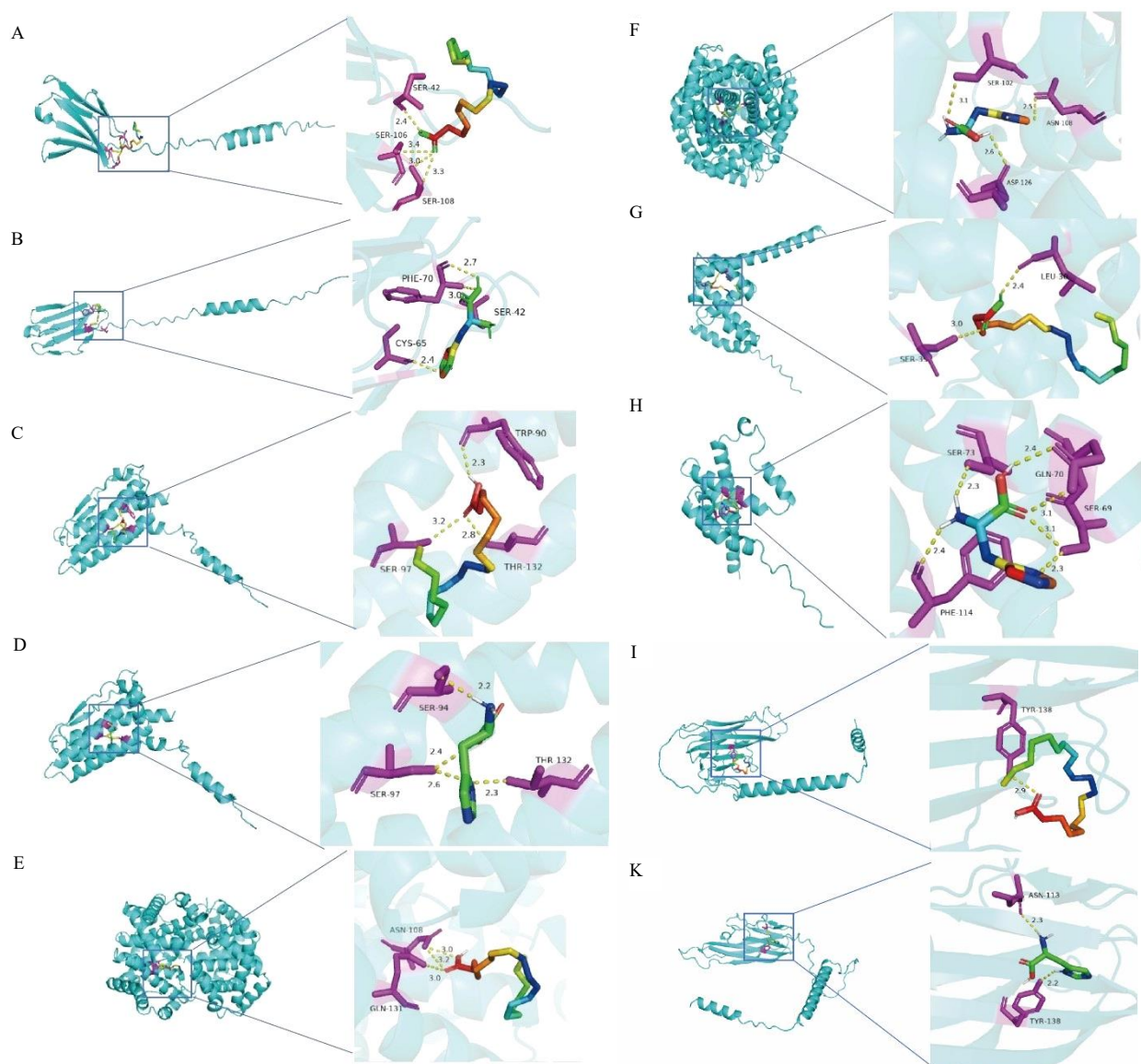


图 10 PMME 入血成分的裂解途径

Fig. 10 Fragmentation pathways of PMME entered blood components

分结果, 采用分子对接技术模拟二十碳一烯酸、组氨酸与造血及炎症微环境核心靶点的相互作用。结合体内药效学指标的生物学机制, 将红细胞的调控溯源至促红细胞生成素受体 (erythropoietin receptor, EPO-R) [54], 将骨髓有核细胞的增殖靶向至

干细胞因子受体 (stem cell factor receptor, c-Kit) [55], 同时全面评估了其与血红蛋白、TNF- α 及 IFN- γ 靶点的亲和力与结合构效关系, 并将其可视化见图 11, 各成分的特异性结合能及其药效分工见表 6。结果显示, 组氨酸主要通过 EPO-R 及血红蛋白的



A-二十碳一烯酸与 c-Kit 的分子对接图; B-组氨酸与 c-Kit 的分子对接图; C-二十碳一烯酸与 EPO-R 的分子对接图; D-组氨酸与 EPO-R 的分子对接图; E-二十碳一烯酸与血红蛋白的分子对接图; F-组氨酸与血红蛋白的分子对接图; G-二十碳一烯酸与 INF- γ 的分子对接图; H-组氨酸与 INF- γ 的分子对接图; J-二十碳一烯酸与 TNF- α 的分子对接图; K-组氨酸与 TNF- α 的分子对接图。

A-molecular docking diagram of eicosenoic acid with c-Kit; B-molecular docking diagram of histidine with c-Kit; C-molecular docking diagram of eicosenoic acid with EPO-R; D-molecular docking diagram of histidine with EPO-R; E-molecular docking diagram of eicosenoic acid with hemoglobin; F-molecular docking diagram of histidine with hemoglobin; G-molecular docking diagram of eicosenoic acid with INF- γ ; H-molecular docking diagram of histidine with INF- γ ; J-molecular docking diagram of eicosenoic acid with TNF- α ; K-molecular docking diagram of histidine with TNF- α .

图 11 入血关键成分与核心靶点的分子对接

Fig. 11 Molecular docking diagrams of key entered blood components with core targets

表 6 入血关键成分与核心靶点的分子对接参数及药效指标关联结果

Table 6 Molecular docking parameters of key entered blood components with core targets and their association with efficacy indicators

药效指标	关联入血成分	核心作用靶点	结合能/($\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$)	关键相互作用
红细胞、血红蛋白	组氨酸	血红蛋白、EPO-R	-5.1、-4.9	多点氢键 (SER-94, 0.22 nm)
骨髓有核细胞	组氨酸、二十碳一烯酸	c-Kit、INF- γ	-5.2、-5.6	强力锚定 (SER-73, 0.23 nm)
TNF- α 、INF- γ	二十碳一烯酸	TNF- α 、INF- γ	-4.2、-5.6	疏水空腔填充+氢键

1 $\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1} = 4.182 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$.

活性口袋形成极其稳定的多点氢键,如与SER-94形成 0.22 nm,表明组氨酸对促进血通路的强驱动力;而二十碳一烯酸则通过疏水空腔填充及关键氢键锚定,对 IFN- γ 和 c-Kit 表现出极高的亲和力,结合能达到 -5.6、-5.2 kcal/mol (1 kcal/mol = 4.182 kJ/mol),表明二十碳一烯酸通过高亲和力结合并阻断 IFN- γ 的促炎活性,协同 c-Kit 信号的激活,更侧重于与骨髓微环境修复。

4 讨论

AA 的主要特征是骨髓造血细胞及外周血全血细胞均减少,发病机制涉及免疫系统、骨髓微环境以及造血祖细胞的增殖分化。一般情况下,经典 AA 模型表现为全血细胞减少,但本研究模型组出现了血小板的异常升高。结合动物造模后期的病理特征,推测血小板异常升高的发生机制主要归结于 2 个方面:①造模引起的急性组织损伤与造血微环境破坏会诱发强烈的炎症应激。本研究检测到模型组血清中 TNF- α 显著升高,作为炎症级联反应的核心上游信号,TNF- α 可强烈刺激下游 IL-6 释放。大量经典研究证实,这种以 IL-6 为代表的促炎微环境可直接诱导肝脏过度表达血小板生成素(thrombopoietin, TPO),进而刺激骨髓巨核细胞异常增殖产生血小板^[56-58]。②模型动物在经历严重的红系造血衰竭和进行性缺氧时,体内高水平的 EPO 及潜在的继发性铁代谢紊乱,均可通过交叉途径或非依赖 TPO 途径刺激巨核细胞的代偿性分裂^[59-61]。因此,推测模型组血小板的升高是机体在急性骨髓衰竭与重度炎症应激下出现的典型病理代偿阶段。尽管受限于实验设计,本研究未直接检测 IL-6 与 TPO 的表达水平,但在 PMME 干预后,随着 TNF- α 、IFN- γ 等炎症微环境的改善和红系造血的恢复,异常升高的血小板逐渐趋于正常化。这进一步反证了 PMME 在干预重度炎症应激、重建造血与免疫稳态中的多靶点调节作用。EPO 是红细胞生成所必须的激素,因此血清中的 EPO 水平可反映体内造血功能。骨髓微环境中血管新生和血管通透性增加可使得造血干细胞更容易穿透血管壁进入外周血,有利于造血干/祖细胞的动员。VCAM-1 是一种能够介导黏附的细胞因子诱导的细胞表面蛋白,VCAM-1⁺ 巨噬细胞作为引导细胞,将造血干/祖细胞护送至血管生态位^[62-63]。VEGF 是一种具有显著促血管生成活性的生长因子,对内皮细胞具有促有丝分裂和抗凋亡作用,能增加血管通透性,促进细胞迁移^[64]。

因此骨髓液中 VCAM-1、VEGF-A 的水平可反映骨髓造血功能。当机体处于 AA 状态时,VCAM-1、VEGF-A 含量降低^[65]。本研究结果显示,模型组大鼠骨髓悬液中 VCAM-1 和 VEGF-A 水平较对照组显著下降,表明 AA 状态下骨髓血管生态位遭到了严重破坏。给予 PMME 干预后,大鼠骨髓悬液中异常降低的 VCAM-1 和 VEGF-A 表达回调,表明 PMME 不仅能抑制促炎因子的过度释放,还能有效促进骨髓微血管的新生与内皮细胞修复。通过重塑受损的骨髓血管生态位,PMME 为造血干/祖细胞的归巢、黏附与动员提供了关键的结构支撑与微环境保障,从而发挥确切的抗造血衰竭作用。

传统的给药方式为口服给药,口服后的药物进入血液中运送到靶点起效,因此入血成分与药效作用有密切关系。但是机体在病理状态和正常状态下对药物的吸收、转化有差异性。本研究采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 先对 PMME 中的化学成分进行表征,继而对 PMME 在正常大鼠及 AA 大鼠中的入血成分进行分析。结果表明,PMME 中主要成分为有机酸类、氨基酸类、核苷类化合物。ig PMME 后,从正常大鼠血浆中鉴定出缬氨酸、二十碳一烯酸、组氨酸及花生酸 4 种成分,在 AA 大鼠血浆中鉴定出二十碳一烯酸、苯丙氨酸、酪氨酸、癸二酸、异亮氨酸、亚油酸、棕榈酸 7 种成分,均与 PMME 在正常大鼠血浆中移行成分一致。对比对照组与正常给药组,二十碳一烯酸与组氨酸在对照组中未检出,仅在正常给药组血浆中被特异性鉴定出,表明上述成分为 PMME 的原型入血成分。

马氏珍珠贝肉富含不饱和脂肪酸和氨基酸,脂溶性成分(如亚油酸、二十碳一烯酸)易于透过胃肠道黏膜,或通过淋巴系统吸收,因此在血中表现出高丰度。模型组二十碳一烯酸含量更高,可能是由于造血细胞数量减少,细胞对脂肪酸的 β -氧化利用能力下降,导致外源性摄入的脂质在血液循环中出现“相对蓄积”,提示机体在 AA 状态下对该特定脂肪酸的代谢偏好或利用障碍。研究表明,AA 患者骨髓中的间充质干细胞更倾向于分化为脂肪细胞而非成骨细胞,导致骨髓微环境中脂质代谢的显著改变^[66]。此外,过量的脂肪酸积聚可能通过分泌抑制性脂肪因子来进一步抑制造血功能^[67]。AA 的核心病理特征之一是骨髓造血组织的衰竭,并伴随红骨髓向黄骨髓(脂肪组织)的转化,即所谓的“骨髓脂肪化”,因此,后续需进一步探究其是否通过

调节过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferators-activated receptor γ , PPAR γ) 通路来改善骨髓异常脂肪化。不饱和脂肪酸是细胞膜磷脂的重要组成部分, 直接决定了细胞膜的流动性和稳定性。在氧化应激状态下, 红细胞膜及其他组织细胞膜极易发生脂质过氧化损伤^[68]。同时, 长链单不饱和脂肪酸(如 C₂₀:1) 已被证实具有一定的抗炎特性^[69], 能够拮抗促炎因子的释放。模型大鼠体内较高的二十碳一烯酸水平, 可能是一种机体的代偿性保护反应。在炎症和缺氧的双重作用下, 机体可能降低了对该类具有膜保护作用的脂肪酸的代谢清除率, 使其在血液中维持较高浓度, 优先用于修复受损的血管内皮或残留的造血细胞膜结构, 抵抗氧化损伤。此外, 本研究发现给药组能显著下调 AA 大鼠血清中异常升高的 TNF- α 和 IFN- γ 水平, 有效改善了由免疫亢进介导的骨髓造血微环境破坏。这一显著的抗炎药效可能与二十碳一烯酸密切相关。二十碳一烯酸属于长链单不饱和脂肪酸, 不饱和脂肪酸类物质具有卓越的免疫调节活性, 能够通过阻断核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 及丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 等炎症信号通路, 显著抑制巨噬细胞及效应 T 细胞对 TNF- α 、IFN- γ 等促炎因子的分泌^[70-71]。因此, 推测入血的二十碳一烯酸极有可能是 PMME 发挥抗炎、调控骨髓微环境的核心药效物质之一。在 AA 的发病机制中, 异常升高的 IFN- γ 和 TNF- α 会通过 Fas/FasL 途径直接诱导骨髓造血干/祖细胞发生凋亡, 并严重破坏造血微环境^[72], 推测二十碳一烯酸极可能并非直接作为生长因子刺激造血祖细胞的增殖, 而是通过发挥免疫调节与抗炎靶向作用, 清除骨髓微环境中的负性造血调控因子, 解除了 TNF- α /IFN- γ 对造血干细胞的诱导凋亡危机。

组氨酸为原型入血成分, 推测是在病理状态下, 加速了组氨酸的转化, 其可通过组氨酸脱羧酶转化为组胺^[73-74], 及与铁或其他金属离子形成配位化合物, 负责与血红蛋白和肌红蛋白分子中的铁结合, 可以促进铁的吸收^[75], 显著促进了血红蛋白的恢复和红细胞的再生, 同时还能减轻游离铁造成的氧化应激毒性^[76]。AA 模型骨髓微环境逐渐改善, 组氨酸的大量入血可为代偿性造血提供充足的核心物质基础, 从而加速红系祖细胞的增殖与血红蛋白的合成。推测 PMME 能显著回调 AA 大鼠外周血红细胞和血红蛋白水平, 进一步印证了组氨酸作为

其抗 AA 潜在药效物质基础的科学性。苯丙氨酸在 PMME 高剂量组的含量略低于正常给药组, 提示贫血状态下机体对氨基酸的利用或清除率发生了改变。苯丙氨酸是合成神经递质(多巴胺、去甲肾上腺素)的前体, AA 患者常伴有疲乏、情绪低落, 高含量的苯丙氨酸入血可能通过改善神经-内分泌网络, 缓解贫血带来的全身症状。

本研究利用 AA 大鼠模型, 明确了 PMME 具有治疗贫血的作用, 并运用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术确定 PMME 治疗 AA 的药效物质基础, 为进一步开展 PMME 体内过程及作用机制研究提供思路 and 基础。然而, 本研究存在一定的局限性。尽管本研究使用了雌雄各半的大鼠以反映普遍的生物学响应, 但由于单一性别亚组的样本量有限, 未对药物吸收和药理敏感性的性别差异进行独立分析。未来的研究有必要采用更大样本量、按性别分层的队列, 以阐明性别对 PMME 治疗功效的潜在影响。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 毛悦, 靳楠, 王文儒, 等. 麻柔运用顾护脾胃冲和之气法治疗再生障碍性贫血经验 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2023, 29(10): 1745-1748.
- [2] 董孟锡, 李秀军. 李秀军教授治疗慢性再生障碍性贫血的经验 [J]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2020, 8(19): 179-180.
- [3] 左祥宇, 王爱迪, 刘宝山. 再生障碍性贫血病机分析 [J]. 天津中医药大学学报, 2017, 36(4): 248-250.
- [4] 李碧云, 韩亚辉, 殷楚云, 等. 艾曲泊帕联合免疫抑制治疗对重型再生障碍性贫血的疗效和安全性的 Meta 分析 [J]. 中国药房, 2023, 34(15): 1891-1898.
- [5] 卢文婕, 张琳, 杨李, 等. 环孢素 A 治疗儿童非重型再生障碍性贫血的转归效果及预后因素分析 [J]. 中国实验血液学杂志, 2021, 29(4): 1257-1261.
- [6] 王兰华, 李树勇, 吴康. 环孢素联合雄性激素治疗非重型再生障碍性贫血的临床疗效观察 [J]. 中国全科医学, 2016, 19(B12): 152-154.
- [7] 魏元凤, 黄东平. 造血干细胞移植治疗再生障碍性贫血的现状 [J]. 中国组织工程研究, 2020, 24(19): 3093-3100.
- [8] 赵鹏, 杨义武, 马林通, 等. rhG-CSF 联合强烈免疫抑制治疗再生障碍性贫血并发感染的效果 [J]. 中华医院感染学杂志, 2021, 31(9): 1358-1362.
- [9] Ramos-Peñafiel C O, Ferrer-Argote V E, Trejo-Ayala R, et al. Androgens added to immunosuppressive regimen in patients with aplastic anaemia. A retrospective study [J]. Rev Médica Del Hosp Gen De México, 2015, 78(3): 107-111.
- [10] 郝晶, 孙凤, 王金环, 等. 补肾生血法对慢性再生障碍

- 性贫血患者 Th22 影响的研究 [J]. 时珍国医国药, 2016, 27(10): 2359-2360.
- [11] 王懋元, 汤欣雨, 刘迪, 等. 益髓解毒方对再生障碍性贫血小鼠骨髓造血功能及 VEGF 表达的影响 [J/OL]. 中国免疫学杂志, (2026-06-18) [2026-06-26]. <https://link.cnki.net/urlid/22.1126.R.20260617.1659.002>.
- [12] 王金环, 代月, 张炫娜, 等. 补肾生血法治疗慢性再生障碍性贫血的疗效及对 CD11a 细胞粘附分子的影响 [J]. 时珍国医国药, 2020, 31(6): 1302-1304.
- [13] 广西中药材标准 [S]. 1992: 171.
- [14] 刁石强, 李来好, 陈培基, 等. 马氏珍珠贝肉风味食品开发研究 [J]. 湛江海洋大学学报, 1999(2): 34-39.
- [15] 刁石强, 李来好, 陈培基. 马氏珍珠贝肉营养成分分析及评价 [J]. 浙江海洋学院学报: 自然科学版, 2000, 19(1): 42.
- [16] 李来好, 刁石强, 陈培基, 等. 南海珍珠贝肉的营养成分分析与评价 [J]. 水产学报, 1999(4): 392-397.
- [17] 刘书成, 李德涛, 高加龙, 等. 近江牡蛎等 3 种贝类的脂类成分分析 [J]. 水产学报, 2009, 33(4): 666-671.
- [18] 吴红棉, 雷晓凌, 洪鹏志, 等. 珠母贝糖胺聚糖的结构初探及其生理活性 [J]. 水产学报, 2001, 25(2): 166-170.
- [19] 张焱, 杨书婷, 韦小翠, 等. 马氏珍珠贝中核苷类成分的分离富集工艺研究 [J]. 食品工业科技, 2020, 41(17): 173-180.
- [20] 章超桦, 吴红棉, 洪鹏志, 等. 马氏珠母贝肉的营养成分及其游离氨基酸组成 [J]. 水产学报, 2000, 24(2): 180-184.
- [21] 郝记明. 酶法水解马氏珠母贝肉制备血管紧张素转换酶抑制肽的研究 [D]. 北京: 中国农业大学, 2005.
- [22] 张政委. 酶解马氏珠母贝肉制备降血压肽的研究 [D]. 南宁: 广西大学, 2008.
- [23] 陈方, 吴铁, 艾春媚, 等. 马氏珠母贝全脏器提取物糖胺聚糖抗肿瘤作用的实验研究 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2002, 7(6): 511-514.
- [24] 范秀萍, 吴红棉, 雷晓凌, 等. 珠母贝氨基多糖的分离纯化及其抗肿瘤活性的初步研究 [J]. 中国海洋药物, 2005, 24(2): 32-36.
- [25] 胡雪琼, 吴红棉, 范秀萍, 等. 珠母贝糖胺聚糖抗肿瘤作用初步研究 [J]. 食品工业科技, 2013, 34(22): 315-319.
- [26] 凌霄, 陈传, 艾春媚. 马氏珠母贝糖胺聚糖体外抑制 HL-60 肿瘤细胞作用的初步观察 [J]. 中国现代应用药学, 2006, 23(S2): 737-738.
- [27] 吴燕燕, 宫晓静, 李来好, 等. 风味蛋白酶水解合浦珠母贝肉制备抗菌肽人工神经网络法优化工艺 [J]. 食品科学, 2011, 32(20): 63-68.
- [28] 于文媛. 马氏珠母贝抗菌肽的初步分离及抗菌活性分析 [D]. 海口: 海南大学, 2011.
- [29] 于文媛, 王世锋, 谢珍玉, 等. 合浦珠母贝抗菌肽粗提液制备方法的优化 [J]. 热带生物学报, 2011(1): 14-20.
- [30] 朱家萍. 马氏珠母贝血清抗菌活性蛋白的分离纯化与鉴定 [D]. 湛江: 广东海洋大学, 2015.
- [31] 范秀萍, 吴红棉, 王娅楠, 等. 4 种贝类糖胺聚糖体外清除自由基活性的比较 [J]. 食品科技, 2008, 33(2): 165-167.
- [32] 李雨哲, 任娇艳, 赵谋明. 马氏珍珠贝糖蛋白分离纯化及其抗氧化活性的研究 [J]. 食品与发酵工业, 2010, 36(10): 30-32.
- [33] 李雨哲, 任娇艳, 赵谋明. 马氏珍珠贝肉糖蛋白的提取工艺优化及其抗氧化活性的研究 [J]. 食品工业科技, 2011, 32(4): 243-245.
- [34] 卢传亮, 郑上华, 童银洪. 马氏珠母贝多糖提取及其保湿性研究 [J]. 现代农业科技, 2013(21): 254-256.
- [35] 田倩, 吴燕燕, 李来好, 等. 合浦珠母贝肉酶解液中抗氧化肽的分离及活性研究 [J]. 食品科学, 2011, 32(S1): 144-148.
- [36] 吴红棉, 雷晓凌, 洪鹏志, 等. 珠母贝糖胺聚糖的结构初探及其生理活性 [J]. 水产学报, 2001, 25(2): 166-170.
- [37] 章超桦, 刘亚, 杨萍, 等. 马氏珠母贝肉酶解蛋白抗疲劳功能的初步研究 [J]. 中国海洋药物, 2006, 25(4): 46-47.
- [38] 王利霞, 章超桦, 高加龙, 等. 马氏珠母贝肉提取物对小鼠急性酒精性肝损伤的影响 [J]. 广东海洋大学学报, 2021, 41(6): 99-107.
- [39] 山东省中药材标准 [S]. 2012: 132
- [40] 张敬礼. 寿世补元 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 145
- [41] 邓培颖, 李雪, 韦翊, 等. 补肾生血解毒方及拆方对免疫介导再生障碍性贫血小鼠 T 淋巴细胞增殖和分化的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(7): 3014-3018.
- [42] 杜青, 何丹, 黄建华, 等. 四物膏对再生障碍性贫血模型大鼠骨髓造血功能的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(3): 92-98.
- [43] 张玉, 董文婷, 霍金海, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术的广地龙化学成分分析 [J]. 中草药, 2017, 48(2): 252-262.
- [44] 严曾豪, 李雯珊, 梁冰宜, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术比较板蓝根和大青叶的化学成分 [J]. 中草药, 2024, 55(12): 3956-3965.
- [45] 杨彦涛, 李卓伦, 周霖, 等. 基于 UHPLC-Q-Orbitrap HRMS 技术的肾康注射液在大鼠体内代谢产物的鉴定及代谢途径分析 [J]. 中草药, 2024, 55(3): 730-745.
- [46] 严志宏, 葛浩宇, 罗珍, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 网络药理学的九制黄精与生黄精对脂多糖诱导 RAW264.7 细胞炎症反应的抑制作用差异研究 [J]. 药物评价研究, 2025, 48(12): 3551-3569.
- [47] Al Aidaros A, Sharma C, Langhans C D, et al. Targeted metabolomic profiling of total fatty acids in human plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Metabolites*, 2020, 10(10): 400.
- [48] Han J, Lin K, Sequeira C, et al. An isotope-labeled chemical derivatization method for the quantitation of

- short-chain fatty acids in human feces by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Anal Chim Acta*, 2015, 854: 86-94.
- [49] Xu T R, Hu C X, Xuan Q H, *et al.* Recent advances in analytical strategies for mass spectrometry-based lipidomics [J]. *Anal Chim Acta*, 2020, 1137: 156-169.
- [50] Wu H L, Yang C Y, Hao R J, *et al.* Lipidomic insights into the immune response and pearl formation in transplanted pearl oyster *Pinctada fucata martensii* [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 1018423.
- [51] 潘龙祥, 高喜梅, 乔萍, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术结合化学模式识别分析温胆汤不同工艺的差异性成分 [J]. 中草药, 2025, 56(8): 2811-2828.
- [52] 张新佳, 王戟森, 梅宇翔, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 与 Python 算法的伤科接骨片成分自动解析 [J]. 分析测试学报, 2026, 45(6): 1234-1244.
- [53] 刘权, 肖观林, 刘焰嫦, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 结合多元统计方法的不同产地石柑子药材质量评价 [J]. 中药材, 2026, 49(3): 678-684.
- [54] Rajendran K, Chellappan D R, Ramakrishnan V, *et al.* Therapeutic efficacy of *Punarnavadi mandura* against phenylhydrazine-induced hemolytic anemia in rats [J]. *J Tradit Complement Med*, 2025, 15(1): 93-104.
- [55] Shin J Y, Hu W H, Naramura M, *et al.* High c-Kit expression identifies hematopoietic stem cells with impaired self-renewal and megakaryocytic bias [J]. *J Exp Med*, 2014, 211(2): 217-231.
- [56] Rokkam V R, Killeen R B, Kotagiri R. *Secondary Thrombocytosis* [M/OL]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, (2024-08-06) [2026-05-10]. <https://europepmc.org/article/MED/32809645>.
- [57] Jeon G W. Pathophysiology, classification, and complications of common asymptomatic thrombocytosis in newborn infants [J]. *Clin Exp Pediatr*, 2022, 65(4): 182-187.
- [58] Bleeker J S, Hogan W J. Thrombocytosis: Diagnostic evaluation, thrombotic risk stratification, and risk-based management strategies [J]. *Thrombosis*, 2011, 2011(1): 536062.
- [59] Bhatta G, Mesecha M, Khan M, *et al.* Response of thrombocytosis after iron replacement therapy in patients with iron deficiency Anemia [J]. *Blood*, 2024, 144: 5259.
- [60] Sharma V, Bagrodia V, Modi N M, *et al.* Marked reactive thrombocytosis in a female with iron deficiency anaemia [J]. *BMJ Case Rep*, 2023, 16(11): e256738.
- [61] Kaser A, Brandacher G, Steurer W, *et al.* Interleukin-6 stimulates thrombopoiesis through thrombopoietin: Role in inflammatory thrombocytosis [J]. *Blood*, 2001, 98(9): 2720-2725.
- [62] Chiu Y G, Aljitawi O S. VCAM-1⁺ macrophages usher hematopoietic stem and progenitor cell to vascular niche “hotspots” [J]. *Ann Transl Med*, 2019, 7(S3): S116.
- [63] Li D T, Xue W Z, Li M, *et al.* VCAM-1⁺ macrophages guide the homing of HSPCs to a vascular niche [J]. *Nature*, 2018, 564(7734): 119-124.
- [64] Melincovici C S, Boşca A B, Şuşman S, *et al.* Vascular endothelial growth factor (VEGF)-key factor in normal and pathological angiogenesis [J]. *Rom J Morphol Embryol*, 2018, 59(2): 455-467.
- [65] 邓梦云, 杨丽娟, 李莉, 等. 补髓生血丸对再生障碍性贫血小鼠造血功能及骨髓 VEGF、TPO、VCAM-1 水平的影响 [J]. 中药新药与临床药理, 2023, 34(1): 42-48.
- [66] Tripathy N K, Singh S P, Nityanand S. Enhanced adipogenicity of bone marrow mesenchymal stem cells in aplastic Anemia [J]. *Stem Cells Int*, 2014, 2014: 276862.
- [67] Naveiras O, Nardi V, Wenzel P L, *et al.* Bone-marrow adipocytes as negative regulators of the haematopoietic microenvironment [J]. *Nature*, 2009, 460(7252): 259-263.
- [68] Wang C Z, Li J H, Liu K H, *et al.* Donkey-hide gelatin-derived carbon dots activate erythropoiesis and eliminate oxidative stress for aplastic anemia treatment [J]. *ACS Nano*, 2025, 19(2): 2922-2935.
- [69] Sales-Campos H, Reis de Souza P, Crema Peghini B, *et al.* An overview of the modulatory effects of oleic acid in health and disease [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2013, 13(2): 201-210.
- [70] Kumar N G, Contaifer D, Madurantakam P, *et al.* Dietary bioactive fatty acids as modulators of immune function: Implications on human health [J]. *Nutrients*, 2019, 11(12): 2974.
- [71] Kim K H, Kim Y, Seo K W. Efficacy of monounsaturated fatty acids in reducing risk of the cardiovascular diseases, cancer, inflammation, and insulin resistance: A narrative review [J]. *Ann Clin Nutr Metab*, 2023, 15(1): 2-7.
- [72] Schoettler M L, Nathan D G. The pathophysiology of acquired aplastic Anemia: Current concepts revisited [J]. *Hematol Oncol Clin North Am*, 2018, 32(4): 581-594.
- [73] Brosnan M E, Brosnan J T. Histidine metabolism and function [J]. *J Nutr*, 2020, 150: 2570S-2575S.
- [74] Zhang Z Z, Fan M L, Hao X, *et al.* Integrative drug efficacy assessment of Danggui and European Danggui using NMR-based metabolomics [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2016, 120: 1-9.
- [75] Niknahad H, Mehrabani P S, Arjmand A, *et al.* Cirrhosis-induced oxidative stress in erythrocytes: The therapeutic potential of taurine [J]. *Ceh*, 2023, 9(1): 79-92.
- [76] Vera-Aviles M, Moreno-Fernandez J, Kose T, *et al.* Effect of histidine and carnosine on haemoglobin recovery in anaemia induced-kidney damage and iron-loading mouse models [J]. *Amino Acids*, 2025, 57(1): 26.