边聪, 张畅, 卢德霜, 等. 中国弯颈霉发酵液代谢物分析及其抗氧化活性评估 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(3): 392−402. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024120031

BIAN Cong, ZHANG Chang, LU Deshuang, et al. Analysis of Metabolites in Fermentation Broth of *Tolypocladium sinense* and Evaluation of Their Antioxidant Activity[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(3): 392−402. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024120031

·营养与保健·

中国弯颈霉发酵液代谢物分析及其抗氧化活性评估

边　聪, 张　畅, 卢德霜, 胡　月, 李超君*, 李　林*

（齐齐哈尔医学院医学技术学院, 黑龙江齐齐哈尔 161006）

摘　要: 本文主要探究中国弯颈霉发酵液（*Tolypocladium sinense* fermentation broth，TSFB）的主要代谢物及其体外抗氧化活性及抑制过氧化氢（H_2O_2）诱导小鼠海马神经元细胞（HT22）氧化应激的能力。采用超高液相色谱-质谱联用对 TSFB 进行非靶代谢组分析；应用抗氧化评价体系结合 Western Blot 技术评价 TSFB 抗氧化作用及对超氧化物歧化酶 1（SOD1）、核因子 E2 相关因子 2（Nrf-2）、超氧化物歧化酶 2（SOD2）和血红素加氧酶-1（HO-1）的表达量的影响。结果显示：TSFB 共检测到 2745 种代谢产物，主要以脂质及类脂分子、有机酸及其衍生物、有机杂环化合物为主，其中相对峰面积最大的活性物质以鞘氨醇、柠檬酸和植物鞘氨醇等为主。体外抗氧化实验表明 TSFB 有较强的自由基清除率；氧化应激细胞模型研究结果发现经 TSFB 低、高剂量给药治疗后，细胞生存率均非常显著上升（$P<0.001$）；同时细胞中氧化应激指标 MDA 含量、LDH 水平、相对 ROS 水平均显著降低（$P<0.05$），抗氧化能力指标 GSH-Px 水平显著升高（$P<0.05$），TSFB 高剂量给药组可高度显著升高 SOD 水平（$P<0.01$）；TSFB 低、高剂量给药组均可显著增加 Nrf-2、HO-1 和 SOD1 蛋白相对表达量（$P<0.05$），高剂量给药组可非常显著增加 SOD2 蛋白相对表达量（$P<0.001$）。本研究系统地分析了 TSFB 主要代谢物及活性物质，揭示了其抗氧化活性及潜在应用价值。

关键词: 中国弯颈霉, 发酵液, 代谢物, 细胞凋亡, 抗氧化, 氧化应激

中图分类号: R285.5　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)03−0392−11

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2024120031

本文网刊:

Analysis of Metabolites in Fermentation Broth of *Tolypocladium sinense* and Evaluation of Their Antioxidant Activity

BIAN Cong, ZHANG Chang, LU Deshuang, HU Yue, LI Chaojun*, LI Lin*

（Department of Medical Technology, Qiqihar Medical University, Qiqihar 161006, China）

Abstract: This study aimed to investigate the major metabolites of *Tolypocladium sinense* fermentation broth (TSFB) and evaluate its *in vitro* antioxidant activity, as well as its ability to alleviate hydrogen peroxide (H_2O_2)-induced oxidative stress in mouse hippocampal neuronal cells (HT22). Ultra-high performance liquid chromatography-mass spectrometry (UHPLC-MS) was employed for untargeted metabolomic analysis of TSFB. An antioxidant evaluation system combined with Western blotting was used to assess the antioxidant effects of TSFB and its influence on the expression levels of superoxide dismutase 1 (SOD1), nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf-2), superoxide dismutase 2 (SOD2), and heme oxygenase-1 (HO-1). The results revealed that detected 2745 metabolites from TSFB, primarily composed of lipids and lipid-like molecules, organic acids and derivatives, and organoheterocyclic compounds. The dominant bioactive constituents included sphingosine, citric acid, and phytosphingosine, which exhibited the highest relative peak areas. *In*

收稿日期: 2024−12−05

基金项目: 黑龙江省“优秀青年教师基础研究支持计划”项目（YQJH2024282）; 齐齐哈尔医学院研究生创新基金项目（QYYCX2023-09）。

作者简介: 边聪（1998−）, 男, 硕士研究生, 研究方向: 天然活性物质与代谢性疾病调控, E-mail: biancong1998@163.com。

*** 通信作者:** 李超君（1986−）, 女, 硕士, 助理研究员, 研究方向: 代谢性疾病与内分泌调控, E-mail: 442315889@qq.com。

李林（1988−）, 女, 博士, 副教授, 研究方向: 代谢性疾病的发病机制与诊疗策略研究, E-mail: dalin36@163.com。

vitro antioxidant assays demonstrated that TSFB possessed strong free radical scavenging capacity. In the oxidative stress cell model, the results showed that both low and high doses of TSFB treatment significantly increased cell survival rates (P<0.001). Meanwhile, oxidative stress markers such as MDA content, LDH levels, and relative ROS levels were significantly reduced (P<0.05), while the antioxidant capacity indicator GSH-Px levels were significantly elevated (P<0.05). Additionally, the high-dose TSFB group notably increased SOD levels (P<0.01). Both low- and high-dose TSFB treatment groups significantly upregulated the protein relative expression of Nrf-2, HO-1, and SOD1 (P<0.05), and the high-dose group further significantly increased SOD2 protein relative expression (P<0.001). This study systematically analyzed the major metabolites and bioactive components of TSFB, elucidating its antioxidant mechanisms and highlighting its potential therapeutic applications.

Key words: *Tolypocladium sinense*; fermentation broth; metabolites; cell apoptosis; antioxidant; oxidative stress

冬虫夏草(*Ophiocordyceps sinensis*)是中国传统名贵中药, 据《本草从新》记载其“味甘、性温”“入肺肾二经”, 有明显滋肺阴、补肾阳作用, 是一种阴阳双补的药物[1], 其可作为食疗材料, 添加到食品中可制作具有补气强身、健胃安神的功能食品。现代药理学研究表明, 其在调节免疫功能、干预呼吸系统疾病、肝脏疾病、肾脏疾病病理进程、抗肿瘤及延缓衰老等领域展现出广泛药理活性, 且现有研究未发现其显著毒副作用, 故有“药中黄金”之美誉[2]。然而, 冬虫夏草主要分布于我国青藏高原等高海拔生态脆弱区域, 受限于严苛的生长环境要求及长期过度人为采挖的双重影响, 该物种自然储量呈显著下降趋势, 市场价格持续高企, 这一现状严重制约了其在临床应用及产业开发中的普及。冬虫夏草是麦角菌科真菌冬虫夏草菌的子座及其寄主蝙蝠蛾科昆虫虫草蝙蝠蛾等的幼虫体(菌核)的复合体。大量研究表明, 冬虫夏草内生真菌种类丰富多样, 如中国被毛孢、蝙蝠蛾拟青霉、中国拟青霉等, 其发酵产物具有多种生物代谢活性物质, 已经开发出基于这些菌种发酵的药用品, 如百令胶囊、金水宝胶囊、虫草菌胶囊等药物, 丰富了冬虫夏草的开发利用价值[3]。中国弯颈霉(*Tolypocladium sinense*)是从冬虫夏草的菌核和子座的菌丝组织分离而得到的虫生真菌, 其菌丝体培养物在以小鼠构建的动物模型中具有显著的镇静、抗炎、抗缺氧、扩张器官和促进雄性激素样作用[4]; 在体外研究中, 也发现中国弯颈霉菌丝体提取物及多糖对 DPPH 自由基具有较强的清除作用, 而且乙酸乙酯提取物具有抑制白血病细胞增殖和诱导其凋亡功能[5]。鉴于其明确的来源背景和已证实的生物活性, 中国弯颈霉可作为极具开发潜力的冬虫夏草替代资源。然而, 目前对其活性物质基础, 特别是发酵液小分子代谢产物的系统研究及其应用价值的挖掘尚显不足, 亟需深入探索以支撑其产业化开发。

鉴于上述应用潜力, 抗氧化活性是评估中国弯颈霉开发利用价值的关键方向之一。本课题组前期研究发现其菌丝体提取物能够缓解肥胖导致的糖脂代谢紊乱和慢性炎症, 其多糖具有抗氧化和抑制氧化应激活性[6−7]。然而, 现有研究多聚焦于菌丝体本身或其提取物, 对发酵液产物抗氧化活性及机制的系统研究仍属空白。当前抗氧化研究领域的发展趋势是深入解析天然产物中活性物质的组成、作用靶点及分子机制。因此, 全面分析中国弯颈霉发酵液的代谢组学特征, 并基于细胞模型阐明其抗氧化作用机制, 不仅是对现有菌丝体研究的必要补充, 更是推动该资源深度开发的关键环节。

为此, 本研究通过非靶代谢组学技术分析中国弯颈霉发酵液(TSFB)的小分子代谢产物组成, 鉴定其主要活性物质基础; 通过体外实验初步评价 TSFB 抗氧化活性; 进而利用 H_2O_2 刺激小鼠海马神经元细胞(HT22)构建氧化应激损伤细胞模型, 深入探究 TSFB 在该细胞模型中的抗氧化作用及其可能分子机制。本研究旨在为中国弯颈霉发酵液资源的科学评价与开发利用奠定坚实的实验基础, 并为开发新型天然抗氧化剂提供潜在候选。

1　材料与方法

1.1　材料与仪器

维生素 C(Vitamin C, V_C)　东北制药; 1,1-二苯基苦基苯肼(P-1,1-diphenylpicryl phenylhydrazine, DPPH)　江莱生物有限公司; 硫酸亚铁、磷酸二氢钾　天津天大化学试剂厂; 酵母浸粉、蛋白胨　北京鸿润宝顺科技有限公司; 硫酸镁、葡萄糖、水杨酸　Sigma; 小鼠海马 HT22 细胞株　中国医学科学院基础医学研究所基础医学细胞中心; Dulbe-cco's modified Eagle's medium, High Glucose 培养基、Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒　凯基生物; 胎牛血清　Gibco; BCA 蛋白浓度测定试剂盒、乳酸脱氢酶(Lactate dehydrogenase, LDH)测定试剂盒、MTT 试剂盒　碧云天生物技术有限公司; 超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)、邻苯三酚、活性氧(Reactive oxygen species, ROS)、谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione peroxidase, GSH-Px)、丙二醛(Malondialdehyde, MDA)检测试剂盒　北京索莱宝科技有限公司; Nrf-2、SOD1、SOD2 抗体　华安生物。

UVP Chemstudio PLUS 自动化分子成像仪　美国 Analytik Jena US LLC 公司; Infinite E Plex 多功能全波段连续光谱检测仪　瑞士 Tecan 公司; JY300E 电泳仪　北京君意东方电泳设备有限公司; 液质联用系统 Acquity I-Class PLUS 超高效液相串

联沃特世 Xevo G2-XS QTof 高分辨质谱仪　美国沃特世科技有限公司; 高速冷冻离心机、二氧化碳培养箱　德国 Eppendorf 公司; 全温振荡培养箱　中国浙江美壁仪器有限公司。

1.2　实验方法

1.2.1　中国弯颈霉发酵液干粉的制备　参考白明健等[8] 的方法进行中国弯颈霉菌种的体外培养。将菌丝体接种到马铃薯培养基后, 置于摇床上, 以 150 r/min 的转速、37 ℃ 的温度培养 96 h。中国弯颈霉菌丝体在摇床中培养后, 进行离心处理(4000 r/min, 15 min), 将滤液通过负压抽滤装置过滤, 即可获得中国弯颈霉发酵液(TSFB)。随后, 将发酵液在 60 ℃ 下进行常压蒸发浓缩至固态, 再置于 60 ℃ 烘箱中烘干, 最终得到发酵液干粉。

1.2.2　中国弯颈霉菌丝体发酵液代谢物非靶向代谢组分析

1.2.2.1　发酵液干粉代谢物提取　为了校正仪器误差, 提高实验的稳定性和准确性, 在提取液中加入了 2 mg/L L-2-氯苯丙氨酸作为内标。称取 50 mg 发酵液干粉, 加入 1000 μL 含有内标的提取液(甲醇∶乙腈∶水体积比=2∶2∶1), 涡旋混匀 30 s; 加入瓷珠, 45 Hz 研磨仪处理 10 min, 超声 10 min(冰水浴); 零下 20 ℃ 静置 1 h 后, 4 ℃, 12000 r/min 离心 15 min; 小心地取出 500 μL 上清于 EP 管中; 在真空浓缩器中干燥提取物; 向干燥后的代谢物加入 160 μL 提取液(乙腈∶水体积比=1∶1)复溶; 涡旋 30 s, 冰水浴超声 10 min; 将样本 4 ℃, 12000 r/min 离心 15 min; 小心地取出 120 μL 上清于 2 mL 进样瓶, 每个样本各取 10 μL 混合成 QC 样本上机检测[9]。

1.2.2.2　色谱条件　沃特世 Acquity I-Class PLUS 超高效液相系统, 使用 ACQUITY UPLC® HSS T3 (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm)色谱柱, 0.3 mL/min 的流速, 40 ℃ 的柱温, 进样量 2 μL。流动相 A: 0.1% 甲酸水溶液; 流动相 B: 0.1% 甲酸乙腈, 进样体积 1 μL[10]。

1.2.2.3　质谱条件　沃特世 Xevo G2-XS QTof 高分辨质谱仪能够在采集软件(MassLynx V4.2, Waters)控制下的 MSe 模式进行一级、二级质谱数据采集。在每个数据采集循环中, 能够同时对低碰撞能量及高碰撞能量进行双通道数据采集。低碰撞能量 2 V, 高碰撞能量区间为 10~40 V, 扫描频率为 0.2 s 一张质谱图。ESI 离子源参数如下: 毛细管电压: 2000 V(正离子模式)或−1500 V(负离子模式); 锥孔电压: 30 V; 离子源温度: 150 ℃; 脱溶剂气温度 500 ℃; 反吹气流速: 50 L/h; 脱溶剂气流速: 800 L/h[11]。

1.2.2.4　非靶代谢组学代谢物定性分析和相对定量分析　从原始质谱数据中提取代谢物峰信息, 生成“特征表”(包含 m/z、RT、峰面积等), 使用 MassLynx V4.2 采集的原始数据通过 Progenesis QI 软件做峰提取、峰对齐等数据处理操作, 基于 Progenesis QI 软件在线 METLIN 数据库、HMDB数据库、KEGG COMPOUND 数据库等进行定性鉴定, 使用峰面积归一化法, 利用峰面积进行相对定量。

1.2.3　中国弯颈霉发酵液的抗氧化活性测定

1.2.3.1　羟自由基清除率测定　参考文献方法[12] 在试管中加入不同浓度的 TSFB 溶液和浓度为 6 mmol/L 的 H_2O_2 和硫酸亚铁溶液各 2 mL, 振荡摇匀后静置。待静置 10 min 后, 再将 2 mL 浓度为 6 mmol/L 的水杨酸溶液加入其中并振荡摇匀。空白对照组将 TSFB 溶液换成纯水, 阳性对照组将 TSFB 换成相同浓度 V_C。在 37 ℃ 水浴中反应 30 min 后通过酶标仪测定 510 nm 处的吸光度并带入下方公式, 进而计算 TSFB 的羟自由基清除率。

$$清除率(\%)=\left(1-\frac{H_{样品}}{H_{空白}}\right)\times 100$$

式中: $H_{样品}$代表样品组吸光度, $H_{空白}$代表空白组吸光度。

1.2.3.2　超氧阴离子自由基清除率测定　参考文献方法[13] 精确量取 TSFB 干粉并溶解于纯水中, 得到 10 mg/mL 的 TSFB 母液。精确量取 5 mL 的磷酸盐缓冲液(浓度为 0.1 mol/L、pH 为 7.2)和 0.1 mL 浓度为 0.4 mg/mL 的邻苯三酚溶液于试管中并振荡混匀。再分别加入 1 mL 不同浓度的 TSFB 溶液和 3.9 mL 纯水振荡混匀。空白对照组将 TSFB 溶液换成纯水, 阳性对照组将 TSFB 换成相同浓度 V_C 溶液进行检测。利用酶标仪检测该混合液在 320 nm 处不同时间(3、6、9、12、15、18、21、24、27、30 min)的吸光度并分别做出各组曲线, 通过把上述曲线的斜率带入下方公式从而计算出 TSFB 的超氧阴离子自由基清除率。

$$清除率(\%)=\left(1-\frac{O_{样品}}{O_{空白}}\right)\times 100$$

式中: $O_{样品}$代表样品组斜率, $O_{空白}$代表空白组斜率。

1.2.3.3　DPPH 自由基清除率测定　参考冯书珍等[14] 方法进行检测并计算 DPPH 自由基清除率。取 5 mg/mL TSFB 溶液, 进行 2 倍梯度等比稀释 5 次, 获得不同质量浓度的待测液, 取 500 μL 上述 TSFB 溶液, 分别加入 500 μL 浓度为 0.04 mg/mL 的 DPPH 溶液, 混匀后室温避光反应 30 min, 测定 517 nm 处吸光度值(D)。样品对照组将 DPPH 溶液换成无水乙醇, 空白对照组将 TSFB 溶液换成纯水, 阳性对照组将 TSFB 换成相同浓度 V_C, 将各组结果带入下方公式可得 TSFB 对 DPPH 自由基的清除率。

$$清除率(\%)=\left(1-\frac{D_{样品}-D_{对照}}{D_{空白}}\right)\times 100$$

式中: $D_{样品}$代表样品组吸光度, $D_{对照}$代表对照组吸光度, $D_{空白}$代表空白组吸光度。

1.2.4　中国弯颈霉发酵液对 H_2O_2 损伤 HT22 细胞的保护作用

1.2.4.1　细胞培养　HT22 细胞系是小鼠海马神经元细胞系。HT22 细胞培养于含 1% 青链霉素混合液、10% 胎牛血清、89% DMEM 高糖培养基的混合培养基中，并放入 5% CO_2 和 37 ℃ 的细胞培养箱中进行细胞培养。

1.2.4.2　中国弯颈霉发酵液和 H_2O_2 浓度的选择　配制 10 mg/mL 的含 TSFB 培养基和 1 mmol/L H_2O_2 培养基母液待用。取细胞融合度达 60%~70% 时的 HT22 细胞，按每孔 5000 个细胞接种于 96 孔板中 37 ℃ 培养 24 h，分别用浓度为（10、5、2.5、1.25、0.625、0.3125、0.156、0.078、0.039、0.02、0.01 mg/mL）的含 TSFB 的培养基和浓度为（50、100、150、200、250 μmol/L）的含 H_2O_2 培养基处理细胞 24 h[8]，MTT 法检测生存率变化，选取适宜浓度 H_2O_2 和 TSFB。

$$生存率(\%)=\frac{实验组OD值}{空白对照组OD值}\times 100$$

1.2.4.3　实验分组　根据 MTT 结果进行实验分组：将细胞分为空白对照组（Control），模型组（Model），低剂量给药组（Low-TSFB）和高剂量给药组（High-TSFB）。各组细胞均置于配制好的 DMEM 培养基中正常培养 24 h 至完全贴壁，模型组仅给予 200 μmol/L H_2O_2 处理 24 h，低、高剂量组在 H_2O_2 处理的同时分别添加不同浓度的 TSFB（0.156、0.625 mg/mL）。

1.2.4.4　细胞 LDH 释放量检测　取 1.2.4.3 培养后的细胞，将细胞按照 LDH 试剂盒说明书离心收集上清并进行 LDH 释放量检测。

1.2.4.5　流式细胞术检测细胞凋亡水平　取 1.2.4.3 培养后的细胞，将细胞通过胰酶消化收集并按照细胞凋亡试剂盒说明书添加荧光探针，最后使用流式细胞仪进行检测。

1.2.4.6　氧化应激相关指标测定　取 1.2.4.3 培养后的细胞，将细胞按照 SOD、MDA、GSH-Px 和 ROS 试剂盒说明书收集并计数，并按照试剂盒说明书进行 SOD、MDA、GSH-Px 和 ROS 一系列氧化应激指标的检测，酶标仪测定 SOD、MDA、GSH-Px 试剂盒处理后的吸光度，ROS 使用流式细胞仪进行检测。

1.2.4.7　Western blot 检测蛋白　取 1.2.4.3 培养后的细胞加入细胞裂解液并用细胞刮刮取细胞从而提取细胞总蛋白，10% SDS-PAGE 凝胶将其分离并转至 PVDF 膜，4% BSA 室温封闭 1 h，一抗 4 ℃ 孵育过夜，TBST 清洗后二抗孵育 2 h，TBST 洗膜。加入 ECL 显色液后进行显影曝光。

1.3　数据处理

非靶代谢组分析使用 MassLynx V4.2 采集的原始数据通过 Progenesis QI 软件做峰提取、峰对齐等数据处理操作，基于 Progenesis QI 软件在线 METLIN 数据库及百迈客自建库进行鉴定，同时进行理论碎片识别，质量数偏差均在 100 ppm 以内。体外抗氧化实验数据采用均数±标准差（mean±SD）的形式表示，用 SPSS 进行统计分析，$P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2　结果与分析

2.1　TSFB 代谢物分析

2.1.1　TSFB 代谢组学的鉴定结果　采用非靶代谢组学技术对浓缩干燥发酵液干粉活性物质进行测定，如图 1 所示。TSFB 共检测出 2745 种代谢产物成分，其中正离子模式下 1446 个代谢物，负离子模式下 1299 个代谢物。在 KEGG COMPOUND 数据库定性到 758 种代谢物，所有定性代谢物可归为以下 14 类，如图 1 所示。从代谢物的种类来看，脂质及类脂分子、有机酸及其衍生物、有机杂环化合物、有机氧化合物数量较多，分别占比 26.3%、20.8%、15.6% 和 14.9%，其次是核苷、核苷酸及其类似物、苯类化合物、苯丙素类和聚酮类化合物和生物碱及其衍生物，分别占比 6.9%、5.8%、4.9% 和 2.4%。方焕谋等[15]采用薄层层析及红外吸收光谱扫描等方法对中国弯颈霉培养物的化学成分分析的研究中发现，其富含有机酸、氨基酸、生物碱及甾醇类物质，与本研究结果一致。目前关于中国弯颈霉发酵液成分的报道较少，为更好地明确 TSFB 中主要活性物质，本研究筛选相对峰面积前 30 的化合物，如表 1 所示。TSFB 中富含多种具有重要生物活性的代谢物，主要有机氮化合物、羧酸及其衍生物、酚类、异戊烯醇脂质、类固醇、脂肪酰类等成分。具体为：a.有机氮化合物，如鞘氨醇、植物鞘氨醇和鞘氨醇-1-磷酸，都属于鞘脂类前体，参与细胞膜结构组成和细胞信号转导，可调节细胞增殖、凋亡及应激反应，其中鞘氨醇-1-磷酸是鞘脂代谢的关键信号分子，通过结合 S1P 受体调控血管稳态、免疫细胞转运及神经元存活，在免疫细胞迁移、血管生成和炎症调控中起关键作用[16]。植物鞘氨醇具有抗氧化作用，能够清除细胞内的自由基，减少氧化应激对细胞的损伤。它可以通过调节细胞内的抗氧化酶系统，如超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶等，增强细胞的抗氧化能力[17−18]。b.羧酸及其衍生物类，如柠檬酸、焦谷氨酸等，其中柠檬酸是三

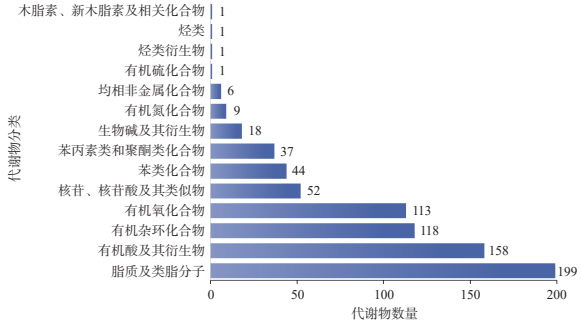


图 1　TSFB 代谢物分类及数量

Fig.1　Classification and quantity of TSFB metabolites

表 1 TSFB 主要代谢物

Table 1 Major metabolites of TSFB

序号	代谢物	分子式	质荷比(m/z)	保留时间RT（min）	相对峰面积	相对含量(%)	HMDB分类
1	鞘氨醇 Sphinganine	$C_{18}H_{39}NO_2$	302.3059	6.434	385709.0846	2.67	有机氮化合物 Organonitrogen compounds
2	柠檬酸 Citric acid	$C_6H_8O_7$	191.0192	0.802	319445.9792	2.21	羧酸及其衍生物 Carboxylic acids and derivatives
3	植物鞘氨醇 Phytosphingosine	$C_{18}H_{39}NO_3$	318.3006	5.863	123535.1242	0.85	有机氮化合物 Organonitrogen compounds
4	长春新碱 Vincristine	$C_{46}H_{56}N_4O_{10}$	847.3925	2.341	75630.48704	0.52	羧酸及其衍生物 Carboxylic acids and derivatives
5	焦谷氨酸 Pyroglutamic acid	$C_5H_7NO_3$	128.0347	0.802	73454.17855	0.51	羧酸及其衍生物 Carboxylic acids and derivatives
6	香草胺Vanillylamine	$C_8H_{11}NO_2$	329.1384	5.714	68724.15925	0.48	酚类Phenols
7	赤霉素 A8 Gibberellin A8	$C_{19}H_{24}O_7$	746.3415	2.426	63949.57391	0.44	异戊烯醇脂质 Prenol lipids
8	蜜二糖醇Melibiitol	$C_{12}H_{24}O_{11}$	344.134	0.796	63690.48101	0.44	脂肪酰类Fatty Acyls
9	莫西沙星 Moxifloxacin	$C_{21}H_{24}FN_3O_4$	384.1803	6.149	63409.88786	0.44	喹啉及其衍生物 Quinolines and derivatives
10	5-氧代二十碳四烯酸 5-OxoETE	$C_{20}H_{30}O_3$	339.1992	8.825	60194.8617	0.42	脂肪酰类 Fatty Acyls
11	巴卡亭 Ⅲ Baccatin Ⅲ	$C_{31}H_{38}O_{11}$	604.2799	2.547	52322.76123	0.36	异戊烯醇脂质 Prenol lipids
12	鞘氨醇-1-磷酸 Sphinganine 1-phosphate	$C_{18}H_{40}NO_5P$	399.3054	8.069	44761.15909	0.31	鞘脂类 Sphingolipids
13	麦角甾醇 Ergosterol	$C_{28}H_{44}O$	379.3355	8.033	36920.56239	0.26	类固醇及类固醇衍生物 Steroids and steroid derivatives
14	6-姜辣素[6]-Gingerol	$C_{17}H_{26}O_4$	293.1782	8.371	35907.02538	0.25	酚类Phenols
15	高柠檬酸 Homocitrate	$C_7H_{10}O_7$	205.0344	1.38	29765.06268	0.21	羧酸及其衍生物 Carboxylic acids and derivatives
16	罗克福汀 CRoquefortine C	$C_{22}H_{23}N_5O_2$	412.174	6.084	28984.28172	0.20	吲哚及其衍生物 Indoles and derivatives
17	2-植基-1,4-萘醌 2-Phytyl-1,4-naphthoquinone	$C_{30}H_{44}O_2$	475.2989	8.425	27402.47887	0.19	异戊烯醇脂质 Prenol lipids
18	赤霉素 A5 Gibberellin A5	$C_{19}H_{22}O_5$	699.3193	2.683	27122.24171	0.19	异戊烯醇脂质 Prenol lipids
19	异分支酸 Isochorismate	$C_{10}H_{10}O_6$	244.0816	0.653	25760.3977	0.18	羟基酸及其衍生物 Hydroxy acids and derivatives
20	癸酸Decanoic acid	C10H20O2	362.3267	5.906	24913.87311	0.17	脂肪酰类Fatty Acyls
21	秋水仙碱Colchicine	$C_{22}H_{25}NO_6$	398.1598	6.147	24548.60897	0.17	卓酮类化合物Tropones
22	巴龙霉素 Paromomycin	$C_{23}H_{45}N_5O_{14}$	636.2909	2.755	23474.07663	0.16	有机氧化合物 Organooxygen compounds
23	麦角胺 Ergotamine	$C_{33}H_{35}N_5O_5$	580.2346	2.029	22427.22339	0.16	麦角新碱及其衍生物 Ergoline and derivatives
24	紫云英苷Astragalin	$C_{21}H_{20}O_{11}$	490.1301	3.481	22370.84295	0.15	类黄酮Flavonoids
25	阿柔比星N Aclacinomycin N	$C_{42}H_{55}NO_{15}$	796.3565	2.754	21443.93123	0.15	吡啶及其衍生物 Pyridines and derivatives
26	根皮苷Phlorizin	$C_{21}H_{24}O_{10}$	454.1733	3.074	19821.79851	0.14	类黄酮Flavonoids
27	甜菊糖苷Stevioside	$C_{38}H_{60}O_{18}$	805.3995	2.875	14062.7138	0.10	异戊烯醇脂质Prenol lipids
28	绿原酸 Chlorogenic acid	$C_{16}H_{18}O_9$	353.0869	2.499	13666.14424	0.09	有机氧化合物 Organooxygen compounds
29	紫杉醇Paclitaxel	$C_{47}H_{51}NO_{14}$	854.3389	5.749	12770.64391	0.09	苯及其取代衍生物 Benzene and substituted derivatives
30	辣椒素Capsaicin	$C_{18}H_{27}NO_3$	270.1921	2.027	11564.77693	0.08	酚类Phenols

注: RT, Retention Time, 保留时间; HMDB, Human Metabolome Database, 人类代谢组数据库。

羧酸循环的重要中间产物, 可通过参与细胞内的代谢过程来调节能量代谢, 调节线粒体氧化磷酸化状态, 影响细胞内氧化-还原稳态。焦谷氨酸是谷氨酸的环状衍生物, 参与谷胱甘肽合成, 间接增强细胞抗氧化能力[19]。c.酚类物质如香草胺、6-姜辣素和辣椒素等, 参与抗氧化活性。香草胺是香草醛的衍生物, 可清除自由基并抑制炎症因子释放; 6-姜辣素具有抗氧化、抗炎及抗癌作用, 可诱导结肠癌细胞凋亡; 辣椒素可通过消耗感觉神经递质 P 物质、促进代谢及抗肿瘤作用[20]。d.异戊烯醇脂质类如巴卡亭Ⅲ是抗癌药紫杉醇的前体物质, 可通过抑制微管解聚诱导肿瘤细胞凋亡[21]; 2-植基-1,4-萘醌作为维生素 K 类似物, 参与凝血因子合成。e.脂肪酰类物质, 如癸酸, 是中链脂肪酸, 具有抗菌活性, 尤其对革兰氏阳性菌(如葡萄球菌)有效, 也能够促进 $CD8^+T$ 细胞活化、增强其抗肿瘤免疫反应能力[22]。另外其它代谢物如紫云英

苷和绿原酸均具有很强的抗氧化能力，能够清除自由基，减少氧化应激损伤，还可通过抑制炎症细胞因子的产生和炎症信号通路的激活来发挥抗炎功效[23−25]；长春新碱、紫杉醇和阿柔比星 N 均具有抗肿瘤和细胞毒性生物活性[26−28]；莫西沙星、巴龙霉素、麦角甾醇和罗克福汀 C 具有抗菌和抗真菌作用[29−31]。以上结果说明 TSFB 可能具有较好的抗氧化、减少氧化应激损伤、抗炎和抑菌作用。

2.1.2　代谢通路分析　对 TSFB 代谢产物进行代谢通路富集分析，结果如图 2 所示，富集到的主要代谢通路如核黄素代谢（Riboflavin metabolism），其中核黄素是辅酶 FAD 和 FMN 的前体，是谷胱甘肽还原酶（GR）的关键辅因子，维持细胞内谷胱甘肽氧化还原系统的平衡。叶酸生物合成（Folate biosynthesis）是参与一碳单位代谢，影响 NADPH 的生成，而 NADPH 是谷胱甘肽还原酶（GR）和硫氧还蛋白还原酶（TrxR）的必需辅因子，直接维持 GSH 和硫氧还蛋白（Trx）的还原状态，对维持线粒体抗氧化应激发挥重要作用。卟啉代谢（Porphyrin metabolism）参与血红素合成，而血红素是过氧化氢酶（CAT）和过氧化物酶（如 GPX）的活性中心，直接参与过氧化物的代谢，调节氧化还原稳态。星形孢菌素生物合成（Staurosporine biosynthesis），可合成吲哚咔唑类生物碱、具有强效的蛋白激酶抑制剂活性，可为肿瘤药物的研发提供研究材料[32]。类固醇生物合成（Steroid biosynthesis）通路可合成植物麦角固醇等，添加到食品中可作为维生素 D 的原料，促进人体钙的吸收。不饱和脂肪酸生物合成（Biosynthesis of unsaturated fatty acids）通路合成不饱和脂肪酸（如油酸、亚油酸），引入双键以调节脂质性质。α-亚麻酸代谢（alpha-Linolenic acid metabolism）主要功能是代谢 ω-3 多不饱和脂肪酸，生成生物活性分子，生成植物性多不饱和脂肪酸（如 EPA/DHA），其衍生物（resolvins, protectins）具有抗炎与抗氧化活性作用，同时可以将不饱和脂肪酸转化为类二十烷酸，具有调节炎症反应和神经功能；而且研究表明 α-亚麻酸与心血管疾病和冠心病死亡风险降低密切相关[33]。以上结果表明 TSFB 在这些代谢途径中可能存在重要的调控作用，这为进一步探究其生物活性机制提供了方向。

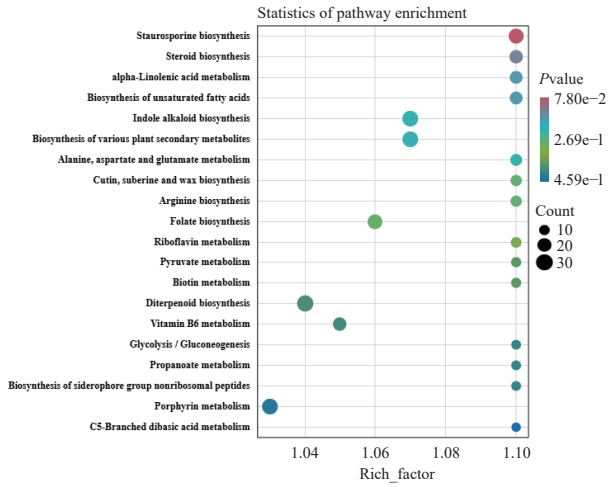


图 2　KEGG 富集分析

Fig.2　KEGG enrichment analysis

2.2　TSFB 清除体外自由基效果

如图 3 所示，TSFB 能够较好地清除多种体外自由基，且在一定范围内自由基清除率随着 TSFB 的浓度增加而增高，当 TSFB 浓度在 0.156~5 mg/mL 范围内其羟自由基、超氧阴离子自由基和 DPPH 自由基清除率分别为 20.65%~81.76%、9.86%~85.35%、48.01%~89.89%。同时 TSFB 对羟自由基、超氧阴离子和 DPPH 自由基的 IC_{50} 分别为 0.7160、1.640 和 0.1605 mg/mL（图 3A~C），其中 TSFB 对 DPPH 自由基清除效果明显高于羟自由基和超氧阴离子自由基。虽然 TSFB 有较好的抗氧化活性，但与 V_C 组

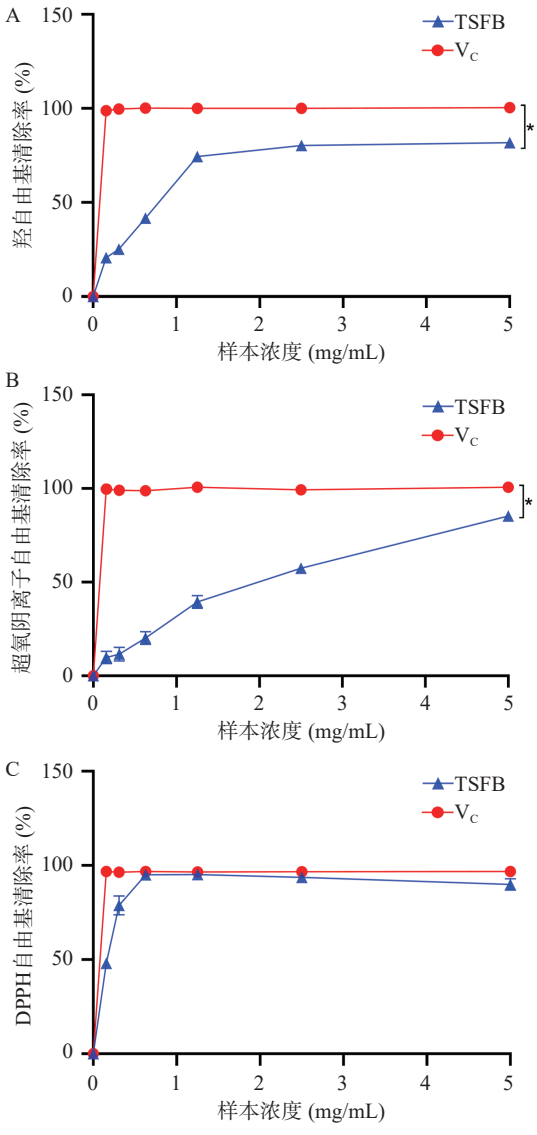


图 3　TSFB 自由基清除率

Fig.3　Radical scavenging rate of TSFB

注：A：羟自由基清除率，B：超氧阴离子自由基清除率，C：DPPH 自由基清除率；*表示 TSFB 与 V_C 组差异显著，P<0.05。

相比仍然具有一定差距(P<0.05)。叶文姣等[34]发现蛹虫草发酵液提取物的羟自由基、超氧阴离子和 DPPH 自由基的 IC_{50} 分别为 3.94、4.07 和 1.15 mg/mL。通过与上述蛹虫草发酵液提取物相比，TSFB 表现出较强的自由基清除能力。

2.3 TSFB 对 H_2O_2 损伤 HT22 细胞的保护作用

2.3.1 HT22 细胞的生存率 如图 4 所示，首先通过 MTT 实验确定 TSFB 的合适治疗浓度及氧化应激

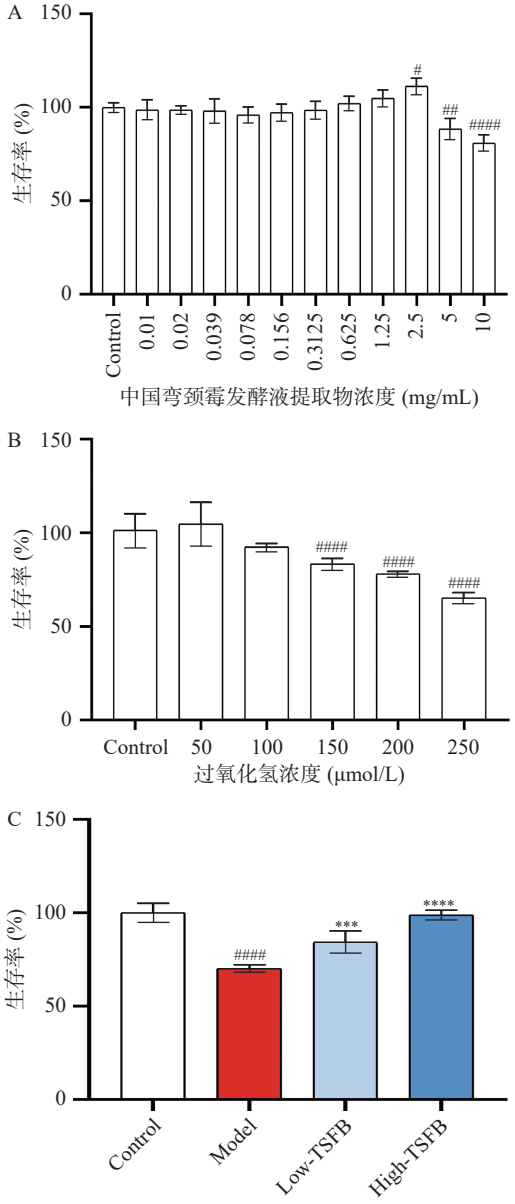


图 4 TSFB 对 H_2O_2 损伤 HT22 细胞生存率的影响

Fig.4 Effects of TSFB on the survival rate of HT22 cells injured by H_2O_2

注：A：TSFB 给药浓度选择，B：H_2O_2 造模浓度选择，C：TSFB 保护 H_2O_2 损伤 HT22 细胞；#表示与 Control 组相比差异显著，P<0.05、##表示与 Control 组相比差异高度显著，P<0.01、###表示与 Control 组相比差异非常显著，P<0.001、####表示与 Control 组相比差异极显著，P<0.0001；ns 表示与 Model 组相比无显著差异，P>0.05、*表示与 Model 组相比差异显著，P<0.05、**表示与 Model 组相比差异高度显著，P<0.01、***表示与 Model 组相比差异非常显著，P<0.001、****表示与 Model 组相比差异极显著，P<0.0001，图 5~图 8 同。

HT22 细胞模型的 H_2O_2 刺激浓度。在使用不同浓度 TSFB 处理 HT22 细胞后，与对照组相比，TSFB 浓度在 0.01~1.25 mg/mL 范围内对 HT22 细胞生存率无显著影响(P>0.05)(图 4A)，当 TSFB 浓度达到 2.5 mg/mL 时，细胞生存率出现最高值(P<0.05)，之后随着浓度的增加细胞的生存率出现高度显著降低(P<0.01)，表明在低于 2.5 mg/mL 浓度时 TSFB 对 HT22 细胞无细胞毒性作用，结合上文中自由基清除的有效浓度，分别选择 TSFB 自由基清除率较低的浓度作为低剂量治疗组(0.156 mg/mL)，选取自由基清除率较高的 TSFB 浓度作为高剂量治疗组(0.625 mg/mL)。在通过不同浓度的 H_2O_2 处理 HT22 细胞后，与对照组相比，H_2O_2 刺激后，HT22 细胞的生存率随着 H_2O_2 浓度的增高而逐渐降低(图 4B)，一般选取细胞生存率 70%~80% 的浓度作为最佳刺激浓度[8]，因此选取 200 μmol/L 作为 H_2O_2 刺激 HT22 细胞氧化应激的最适浓度。在 TSFB 治疗后，研究发现 TSFB 能明显抑制因 H_2O_2 刺激而导致的细胞生存率降低(图 4C)。与空白对照组相比，在给予 H_2O_2 刺激后模型组细胞生存率极显著下降到 70.14%(P<0.0001)；与模型组相比，在给予低、高剂量 TSFB 保护后细胞生存率非常显著升高到 84.28% 和 98.89%(P<0.001)，且随着给药浓度增高细胞生存率不断增高。以上结果表明，TSFB 给药可显著抑制氧化应激诱导的细胞存活率下降，提示其具有潜在的抗氧化活性。

2.3.2 TSFB 降低 H_2O_2 损伤 HT22 细胞中 LDH 水平 LDH 大部分存在于细胞内部，在细胞受到损伤后细胞膜结构被破坏导致 LDH 被释放，通过检测 LDH 的浓度可以分析细胞膜的被破坏程度[35−36]。在给予 H_2O_2 刺激后，与空白对照组相比，模型组培养基中 LDH 含量极显著上升(P<0.0001)，表明 HT22 的细胞膜结构遭到破坏(图 5)；与模型组相比，在给予低、高剂量的 TSFB 保护后培养基中 LDH 含量显著降低至 106.00±10.40 U/L 和 77.74±9.11 U/L(P<

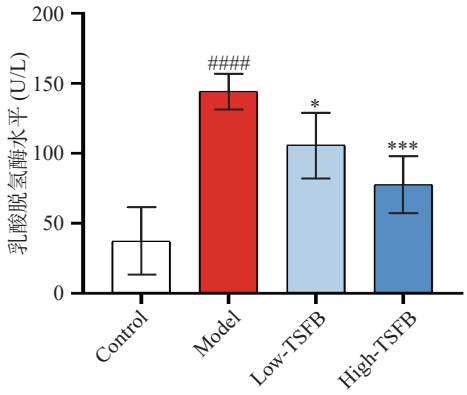


图 5 TSFB 对 H_2O_2 损伤 HT22 细胞乳酸脱氢酶释放量的影响

Fig.5 Effect of TSFB on the release of lactate dehydrogenase in HT22 cells injured by H_2O_2

0.05）。结果表明，TSFB 能够有效保护 H_2O_2 刺激后的细胞膜完整性。

2.3.3　TSFB 降低 HT22 细胞因 H_2O_2 损伤导致的细胞凋亡　细胞凋亡是指因特定信号诱导触发了细胞内的死亡级联反应而出现的生理性或病理性的主动性死亡过程，主要是为了维持内环境稳定。在受到 H_2O_2 刺激后，超出了细胞可以承受的强度与阈值抑或受机体病理状态影响则可导致病理情况下的细胞凋亡[37]。如图 6A~B 所示，与空白对照组相比，在给予 H_2O_2 刺激后模型组细胞凋亡率非常显著上升至 9.87%（P<0.001），同时，与模型组相比在给予低、高剂量 TSFB 保护后细胞凋亡率显著下降至 6.73% 和 4.21%（P<0.05），表明通过 TSFB 给药可以改善细胞在 H_2O_2 刺激下的凋亡情况，进一步证实了 TSFB 在疾病状态下对细胞具有保护效果的潜在价值。

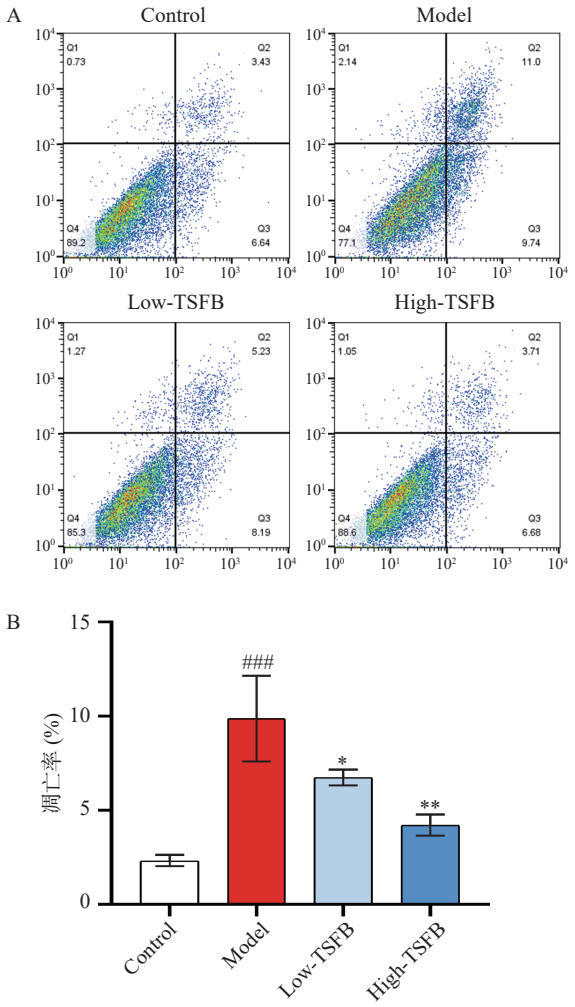


图 6　TSFB 对 H_2O_2 损伤 HT22 细胞凋亡的影响

Fig.6　Effect of TSFB on the apoptosis of HT22 cells injured by H_2O_2

注：A：细胞凋亡水平，B：细胞凋亡率。

2.3.4　TSFB 降低 H_2O_2 损伤 HT22 细胞的氧化应激水平　氧化应激反应不仅可以直接损伤细胞，还会影响线粒体的代谢功能。氧化应激以“超氧化物”为中心，其病理来源包括氧衍生自由基，这些自由基可引发多种类型的分子破坏。同时，机体存在抗氧化防御机制，其中超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶等保护酶发挥着重要作用[38]。GSH-Px、SOD 在机体内源性抗氧化酶中占据着重要的作用，机体抗氧化能力主要靠 GSH-Px、SOD 的水平展现[39]，MDA 是脂质过氧化的副产物，可用于评价氧化应激损伤[40-41]。如图 7 所示，与空白对照组相比，给予 H_2O_2 刺激后的模型组 MDA 水平高度显著升高（P<0.01），SOD 和 GSH-Px 水平非常显著降低（P<0.001），与模型组相比，在给予低、高剂量 TSFB 保护后 GSH-Px 水平显著升高（P<0.05）（图 7A），MDA 水平显著降低（P<0.05）（图 7B），TSFB 高剂量给药组 SOD 水平高度显著增高（P<0.01）（图 7C）。

ROS 包括各种氧自由基及 H_2O_2 等，可以与细胞内的一些生物大分子发生化学反应，破坏细胞的结构和功能，从而影响细胞凋亡[42]。ROS 结果显示（图 7D~E），与空白对照组相比，模型组细胞相对 ROS 水平极显著上升至 230.6%（P<0.0001），与模型组相比，在给予低、高剂量 TSFB 保护后细胞相对 ROS 水平非常显著下降至 157.1% 和 134.5%（P<0.001），以上结果表明在 TSFB 给药后能够增加细胞内 GSH-Px 和 SOD 的水平并降低 MDA 和 ROS 的水平，从而缓解因 H_2O_2 诱导细胞发生氧化应激而产生的损伤。

2.3.5　TSFB 上调 H_2O_2 损伤 HT22 细胞中 Nrf-2、HO-1、SOD1 和 SOD2 的表达水平　核转录因子红系 2 相关因子 2/血红素加氧酶-1（Nuclear factor-erythroid 2-related factor 2/heme oxygenase-1，Nrf-2/HO-1）是调控氧化应激反应的重要通路，能够抑制 ROS 的产生，减少 SOD 的消耗。在氧化应激状态时，ROS 能促进 Nrf-2 进入细胞核内与抗氧化反应元件（Antioxidant response element，ARE）结合，上调 HO-1 的表达发挥细胞的自我保护作用[43]。有研究证实 Nrf-2 蛋白表达增高的同时氧化应激水平也随之减少[44]。Western bolt 结果表明（图 8），与空白对照组相比，H_2O_2 处理的模型组细胞中 HO-1 和 Nrf-2 相对表达量高度显著降低（P<0.01），与模型组相比，TSFB 低、高剂量给药均可显著增加细胞中 HO-1 和 Nrf-2 的相对表达量（P<0.05）。

SOD 作为生物体内重要的抗氧化酶之一，可通过结合金属离子种类不同将其分为 SOD1、SOD2 等，而 SOD1 和 SOD2 都能参与清除氧自由基，从而保护细胞免受氧化性损伤[45]。为进一步评价 TSFB 对细胞氧化应激水平的影响，本研究通过 Western blot 检测 SOD1 和 SOD2 蛋白表达水平，结果表明，与空白对照组相比，模型组细胞 SOD1 和 SOD2 相对表达量非常显著降低（P<0.001）；与模型组相比，低剂量给药组细胞中 SOD1 相对表达量显著增加（P<0.05），高剂量给药组细胞中 SOD1 和 SOD2 相对表达量非常显著增加（P<0.001）。以上结果说明，在给

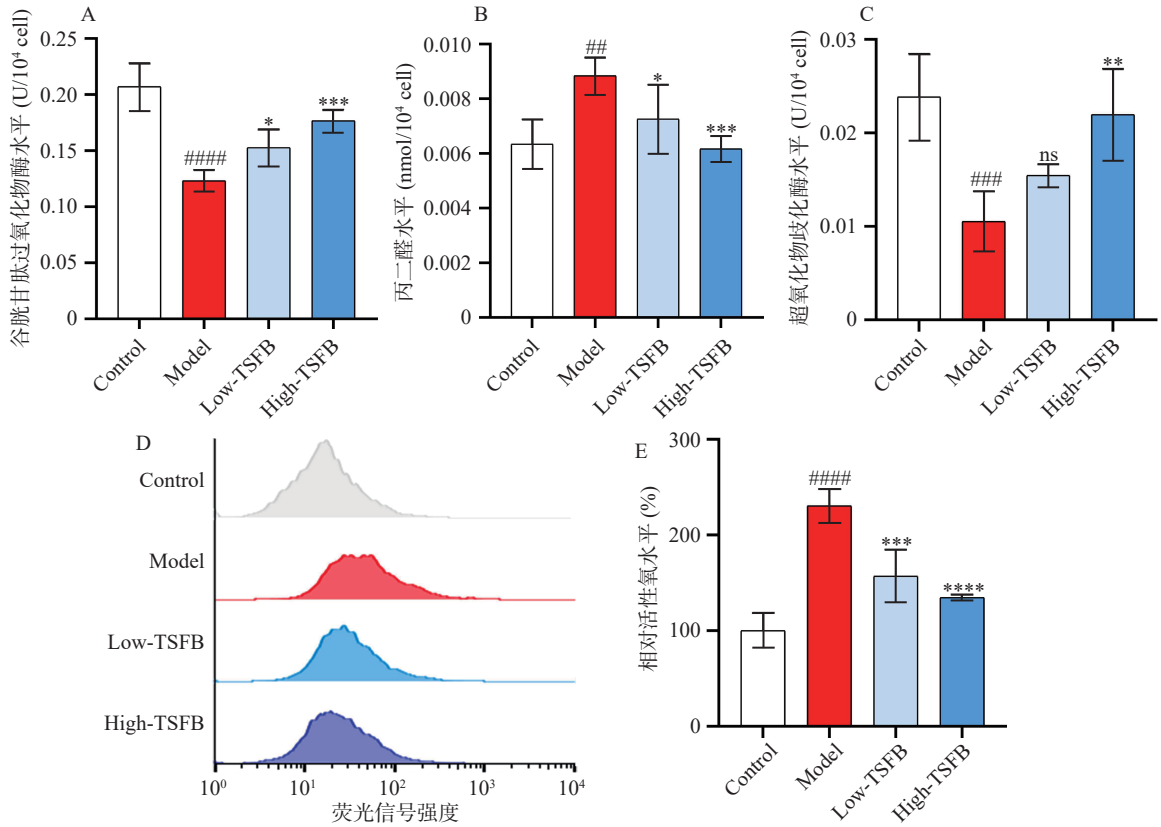


图 7　TSFB 对 H_2O_2 损伤 HT22 细胞氧化应激水平的影响

Fig.7　Effect of TSFB on oxidative stress level of HT22 cells injured by H_2O_2

注: A: 细胞 GSH-Px 水平, B: 细胞 MDA 水平, C: 细胞 SOD 水平, D: ROS 分析图, E: 相对 ROS 水平。

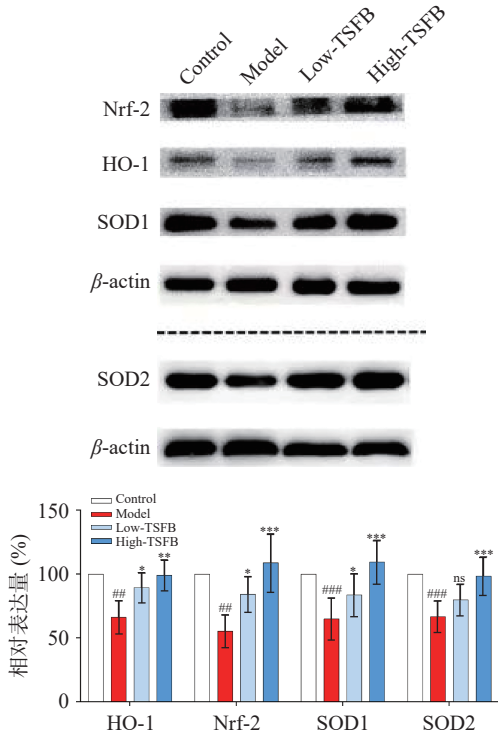


图 8　TSFB 对过氧化氢损伤 HT22 细胞 Nrf-2/HO-1 通路相关蛋白表达影响

Fig.8　Effect of TSFB on expression of Nrf-2/HO-1 pathway-related proteins in HT22 cells injured by H_2O_2

予 H_2O_2 刺激后, 细胞发生氧化应激进而导致细胞发生凋亡, 但是通过 TSFB 给药能够保护细胞免受因氧化应激而导致的凋亡情况。有研究表明, H_2O_2 刺激细胞凋亡水平显著升高, 给予药物治疗后能够显著减少凋亡水平, 保持其细胞活性, 可能与氧化应激水平降低相关[46], 因此推测 TSFB 可能通过上调 Nrf-2 的表达水平, 进而上调其下游基因 HO-1 表达, 调控 SOD1、SOD2 的表达, 增加 SOD、GSH-Px 等多种抗氧化酶活性并降低 MDA 水平来发挥其抗氧化功能。但是当机体处于氧化应激时, 多种信号通路可能在氧化应激的作用下发生改变[47], 因此, 在未来研究中还需要进一步地研究 TSFB 作用于细胞内的抗氧化作用机制。

3　结论

本研究综合运用非靶代谢组学技术、体外自由基清除实验及细胞氧化应激损伤模型, 系统解析了 TSFB 的小分子化学成分, 并对其体外抗氧化活性进行了深入评估。非靶向代谢组学分析结果显示, TSFB 中代谢物种类繁多且含量丰富, 部分成分具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤等多种潜在生物活性。体外抗氧化实验结果表明, TSFB 对羟自由基、超氧阴离子自由基和 DPPH 自由基均表现出显著的清除作用。在细胞水平研究中, TSFB 不仅能有效降低 H_2O_2 诱导的细胞氧化应激水平, 减少细胞凋亡, 还能通过上调 Nrf-2/HO-1 信号通路, 进一步促进 HO-1、SOD1 和 SOD2 的表达, 从而缓解氧化应激损伤。这些结果充分揭示了 TSFB 潜在的药用价值。然而, 本研究

存在一定局限性，目前仅开展了体外实验。为进一步验证 TSFB 的生物学功能，后续将构建氧化应激动物模型，深入探究 TSFB 对动物体内氧化应激水平及相关蛋白表达的影响，为 TSFB 的开发利用提供更坚实的理论依据。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] 吴仪洛. 本草从新[M]. 上海：上海科学技术出版社, 1982：36. [WU Y L. New compilation of materia medica[M]. Shanghai：Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1982：36.]

[2] 苑鹏, 刘鑫龙. 冬虫夏草提取物及其活性成分研究进展[J]. 农产品加工, 2022(2)：60−61,67. [YUAN Peng, LIU Xinlong. Research advances of extracts and active components from *Cordyceps sinensis*[J]. Farm Products Processing, 2022(2)：60−61,67.]

[3] 白飞荣. 冬虫夏草真菌群落的物种多样性研究[D]. 太原：山西大学, 2012. [BAI Feirong. Fungal diversity in the community of naturally-occurring *Ophiocordyceps sinensis*[D]. Taiyuan：Shanxi University, 2012.]

[4] 方焕谋, 谭树明, 雷坚. 中国弯颈霉的培养性状和药理作用研究[J]. 菌物系统, 1998, 17(1)：40−45. [FANG H M, TAN S M, LEI J, et al. Studies on cultural characters and pharmacological function of *Tolypocladium sinense*[J]. Mycosystema, 1998, 17(1)：40−45.]

[5] 高立文, 张臻, 周建芹, 等. 中国弯颈霉提取物抗氧化和抗肿瘤体外活性研究[J]. 食品科学, 2009, 30(5)：227−232. [GAO Liwen, ZHANG Zhen, ZHOU Jianqin, et al. Study on anti-oxidant and anti-tumor activities *in vitro* of *Tolypocladium sinense* extracts[J]. Food Science, 2009, 30(5)：227−232.]

[6] WANG Xiaolong, LI Lin, BAI Mingjian, et al. Dietary supplementation with *Tolypocladium sinense* mycelium prevents dyslipidemia inflammation in high fat diet mice by modulation of gut microbiota in mice[J]. Frontiers in Immunology, 2022, 13：977528.

[7] BAI Mingjian, WANG Xiaolong, LIU Dongyang, et al. *Tolypocladium sinense* mycelium polysaccharide alleviates obesity, lipid metabolism disorder, and inflammation caused by high fat diet *via* improving intestinal barrier and modulating gut microbiota[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2024, 68(9)：e2300759.

[8] 白明健, 周颖, 程昊, 等. 中国弯颈霉多糖抗氧化和抑制氧化应激活性研究[J]. 食品工业科技, 2024, 45(2)：333−341. [BAI Mingjian, ZHOU Ying, CHENG Hao, et al. Antioxidant and oxidative stress inhibitory activities of *Tolypocladium sinense* polysaccharide[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(2)：333−341.]

[9] LI Guangyao, JIAN Tongtong, LIU Xiaojin, et al. Application of metabolomics in fungal research[J]. Molecules, 2022, 27(21)：7365.

[10] ZELENA E, DUNN W B, BROADHURST D, et al. Development of a robust and repeatable UPLC-MS method for the long-term metabolomic study of human serum[J]. Analytical Chemistry, 2009, 81(4)：1357−1364.

[11] WANT E J, MASSON P, MICHOPOULOS F, et al. Global metabolic profiling of animal and human tissues via UPLC-MS[J]. Nature Protocols, 2013, 8(1)：17−32.

[12] 胡晓彤, 叶玉洁, 石光, 等. 桑黄子实体多糖的提取及其对 D-半乳糖诱导的 3T3 细胞损伤的保护作用[J]. 食品科学, 2020, 41(19)：204−211. [HU Xiaotong, YE Yujie, SHI Guang, et al. Extraction of polysaccharides from fruiting bodies of *Phellinus igniarius* and its protective effect on D-galactose induced 3T3 cell injury[J]. Food Science, 2020, 41(19)：204−211.]

[13] 陈仕学, 姚元勇, 卢忠英, 等. 邻苯三酚自氧化法对茶叶中茶多酚的抗氧化性能应用研究[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(17)：29−36. [CHEN Shixue, YAO Yuanyong, LU Zhongying, et al. Pyrogallol autoxidation and its application to tea polyphenols activity assay[J]. Food Research and Development, 2020, 41(17)：29−36.]

[14] 冯书珍, 卢宇凤, 刘南英, 等. 海藻多糖的单糖组成对体外抗氧化活性的影响[J]. 天然产物研究与开发, 2019, 31(1)：116−121, 169. [FENG Shuzhen, LU Yufeng, LIU Nanying, et al. Effect of monosaccharide composition on antioxidant activity of algal polysaccharides[J]. Natural Product Research and Development, 2019, 31(1)：116−121,169.]

[15] 方焕谋, 谭树明, 詹松. 中国弯颈霉培养物的化学成份分析[J]. 菌物系统, 1998(1)：46−50. [FANG H M, TAN S M, ZHAN S. The chemical component analysis of cultivated products of *Tolypocladium sinenes*[J]. Mycosystema, 1998(1)：46−50.]

[16] PÉREZ-JELDRES T, ALVAREZ-LOBOS M, RIVERA-NIEVES J. Targeting sphingosine-1-phosphate signaling in immune-mediated diseases：Beyond multiple sclerosis[J]. Drugs, 2021, 81(9)：985−1002.

[17] MASAKI H, ATSUMI T, SAKURAI H. Protective activity of hamamelitannin on cell damage induced by superoxide anion radicals in murine dermal fibroblasts[J]. Biological & Pharmaceutical Bulletin, 1995, 18(1)：59−63.

[18] LEE M, HEE S, JI C, et al. UPLC-QTOF-MS/MS and GC-MS characterization of phytochemicals in vegetable juice fermented using lactic acid bacteria from kimchi and their antioxidant potential[J]. Antioxidants, 2021, 10(11)：1761.

[19] HU Pengcheng, YUAN Meng, GUO Bolun, et al. Citric acid promotes immune function by modulating the intestinal barrier[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(2)：1239.

[20] 辛嘉英, 王艳, 张超越, 等. 辣椒素酯类物质研究进展[J]. 食品科学, 2013, 34(11)：352−357. [XIN J Y, WANG Y, ZHANG C Y, et al. Research progress of capsiates[J]. Food Science, 2013, 34(11)：352−357.]

[21] 张雅静. 东北红豆杉中紫杉烷类化合物的高效提纯及网络药理学研究[D]. 长春：吉林大学, 2023. [ZHANG Y J. Efficient extraction, purification and network pharmacology of taxanes from *Taxus cuspidata*[D]. Changchun：Jilin University, 2023.]

[22] 张翀, 金海振, 周纯, 等. 癸酸能够活化 $CD8^+$T 细胞并提高其抗肿瘤免疫反应能力[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2024, 31(5)：437−444. [ZHANG Chong, JIN Haizhen, ZHOU Chun, et al. Decanoic acid activates $CD8^+$T cells and enhances their anti-tumor immune responses[J]. Chinese Journal of Cancer Biotherapy, 2024, 31(5)：437−444.]

[23] TIAN Q, MOORE A Z, OPPONG R, et al. Mitochondrial DNA copy number and heteroplasmy load correlate with skeletal muscle oxidative capacity by P31 MR spectroscopy[J]. Aging Cell, 2021, 20(11)：e13487.

[24] 肖鼎, 白俊丞, 张彬. 紫云英苷抗肿瘤作用相关信号通路的研究进展[J]. 实用肿瘤学杂志, 2024, 38(1)：62−66. [XIAO Ding, BAI Juncheng, ZHANG Bin. Research progress of signal pathways related to the anti-tumor effect of astragalin[J]. Practical Oncology Journal, 2024, 38(1)：62−66.]

[25] 陈少东, 王玉杰, 李如双, 等. 绿原酸-栀子苷组合对代谢相

关性脂肪性肝炎大鼠 SUCNR1/PI3K/HIF-1α 信号通路的影响[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2025, 33(4): 420−424. [CHEN Shaodong, WANG Yujie, LI Rushuang, et al. Research of chlorogenic acid geniposide combination on rats with MASH based on SUCNR1/PI3K/HIF-1α signal pathway[J]. Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine on Digestion, 2025, 33(4): 420−424.]

[26] 张祚, 杨爱云, 路媛芳, 等. 碳酸锂联合长春新碱促进儿童急性 T 淋巴细胞白血病细胞增殖抑制和凋亡[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2024, 40(5): 647−655. [ZHANG Zuo, YANG Aiyun, LU Yuanfang, et al. Lithium carbonate combined with vincristine inhibits the proliferation and promotes apoptosis of children's acute T lymphoblastic leukemia cells[J]. Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2024, 40(5): 647−655.]

[27] 潘元腾, 李扬, 庄佳芳, 等. 低剂量紫杉醇联合顺铂治疗老年晚期非小细胞肺癌的有效性及安全性[J]. 临床合理用药, 2025, 18(7): 14−17. [PAN Yuanteng, LI Yang, ZHUANG Jiafang, et al. Efficacy and safety of low-dose paclitaxel combined with cisplatin in the treatment of elderly patients with advanced non-small cell lung cancer[J]. Chinese Journal of Clinical Rational Drug Use, 2025, 18(7): 14−17.]

[28] 尹金玉, 徐子瑶, 孙倩, 等. 维奈克拉联合地西他滨、阿柔比星对急性髓系白血病细胞增殖和凋亡的影响[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2022, 42(10): 1349−1356. [YIN Jinyu, XU Ziyao, SUN Qian, et al. Influence of venetoclax combined with decitabine and/or aclarubicin on the proliferation and apoptosis of acute myeloid leukemia cells[J]. Journal of Nanjing Medical University (Natural Sciences), 2022, 42(10): 1349−1356.]

[29] GANGOLLI R, PUSHALKAR S, BEUTEL B G, et al. Calcium sulfate disks for sustained-release of amoxicillin and moxifloxacin for the treatment of osteomyelitis[J]. Materials, 2024, 17(16): 4086.

[30] CHU W Y, VERREST L, YOUNIS B M, et al. Disease-specific differences in pharmacokinetics of paromomycin and miltefosine between post-kala-azar dermal leishmaniasis and visceral leishmaniasis patients in eastern Africa[J]. The Journal of Infectious Diseases, 2024, 230(6): e1375−e1384.

[31] LI Zhuang, LIU Na, YANG Wanzhen, et al. Controlling antifungal activity with light: Optical regulation of fungal ergosterol biosynthetic pathway with photo-responsive CYP51 inhibitors[J]. Acta Pharmaceutica Sinica. B, 2023, 13(7): 3080−3092.

[32] ŌMURA S, ASAMI Y, CRUMP A. Staurosporine: New lease of life for parent compound of today's novel and highly successful anti-cancer drugs[J]. The Journal of Antibiotics, 2018, 71(8): 688−701.

[33] NAGHSHI S, AUNE D, BEYENE J, et al. Dietary intake and biomarkers of alpha linolenic acid and risk of all cause, cardiovascular, and cancer mortality: Systematic review and dose-response meta-analysis of cohort studies[J]. BMJ, 2021, 375: n2213.

[34] 叶文姣, 冯武, 黄文, 等. 蛹虫草胞外多糖的体外抗氧化活性分析[J]. 华中农业大学学报, 2014, 33(5): 105−110. [YE Wenjiao, FENG Wu, HUANG Wen, et al. Antioxidant activity of extracellular polysaccharides of *Cordyceps militaris*[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2014, 33(5): 105−110.]

[35] 林香, 任天宇, 周梅兰, 等. 长茎葡萄蕨藻水提物体外抗氧化活性和对人肝细胞 L02 氧化损伤的保护作用[J]. 现代食品科技, 2023, 39(8): 1−9. [LIN Xiang, REN Tianyu, ZHOU Meilan, et al. Antioxidant activity of water extracts of *Caulerpa lentillifera* and their protective effects against oxidative damage of human L02 cells[J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(8): 1−9.]

[36] ZHAO Bin, ZHANG Dongdong, SUN Yixin, et al. Explore the effect of LLY-283 on the ototoxicity of auditory cells caused by cisplatin: A bioinformatic analysis based on RNA-seq[J]. Journal of Clinical Laboratory Analysis, 2022, 36(2): e24176.

[37] 游雪娟, 冯珂, 纪立金, 等. 线粒体—中医“脾”与细胞凋亡相关理论研究[J]. 中医临床研究, 2025, 17(7): 104−109. [YOU X J, FENG K, JI L J, et al. A theoretical study on the relationship between mitochondria-TCM "spleen" and apoptosis[J]. Clinical Journal of Chinese Medicine, 2025, 17(7): 104−109.]

[38] HYBERTSON B M, GAO Bifeng, BOSE S K, et al. Oxidative stress in health and disease: The therapeutic potential of Nrf2 activation[J]. Molecular Aspects of Medicine, 2011, 32(4-6): 234−246.

[39] BOGACKA A, OLSZEWSKA M, CIECHANOWSKI K. Effects of diet and supplements on parameters of oxidative stress, inflammation, and antioxidant mechanisms in patients with chronic renal failure undergoing hemodialysis[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(20): 11036.

[40] DANISH M, SHAHID M, ZEYAD M T, et al. *Bacillus mojavensis*, a metal-tolerant plant growth-promoting bacterium, improves growth, photosynthetic attributes, gas exchange parameters, and alkalo-polyphenol contents in silver nanoparticle (Ag-NP)-treated with *Ania somnifera* L. (ashwagandha)[J]. ACS Omega, 2022, 7(16): 13878−13893.

[41] 王强. 中药益气活血方对急诊 PCI 患者的氧化应激水平的影响[J]. 中医临床研究, 2019, 11(23): 34−36. [WANG Qiang. Efficacy of the Yiqi Huoxue prescription on oxidative stress level of PCI patients in emergency[J]. Clinical Journal of Chinese Medicine, 2019, 11(23): 34−36.]

[42] ALHARBI K, AL-OSAIMI A A, ALGHAMDI B A. Sodium chloride (NaCl)-induced physiological alteration and oxidative stress generation in *Pisum sativum* (L.): A toxicity assessment[J]. ACS Omega, 2022, 7(24): 20819−20832.

[43] CAO Daihong, WANG Yunhan, LI Wentao, et al. 3, 4-Dihydroxyacetophenone attenuates oxidative stress-induced damage to HUVECs via regulation of the Nrf2/HO-1 pathway[J]. Molecular Medicine Reports, 2022, 25(6): 199.

[44] JIANG Ning, ZHANG Yiwen, YAO Caihong, et al. Ginsenosides Rb1 attenuates chronic social defeat stress-induced depressive behavior via regulation of SIRT1-NLRP3/Nrf2 pathways[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 868833.

[45] WANG Ning, LI Linman, ZHANG Puyu, et al. *In-silico* annotation of the chemical composition of Tibetan tea and its mechanism on antioxidant and lipid-lowering in mice[J]. Nutrition Research and Practice, 2023, 17(4): 682−697.

[46] 李思琪, 陈广道, 曾其毅. 大黄酚对 H_2O_2 诱导 EA. hy926 细胞凋亡的改善作用及其机制[J]. 吉林大学学报(医学版), 2024, 50(6): 1512−1518. [LI Siqi, CHEN Guangdao, ZENG Qiyi. Improvement effect of chrysophanol on hydrogen peroxide-induced apoptosis of EA. hy926 cells and its mechanism[J]. Journal of Jilin University (Medicine Edition), 2024, 50(6): 1512−1518.]

[47] ZHU X, CHEANG I, TANG Y, et al. Associations of serum carotenoids with risk of all-cause and cardiovascular mortality in hypertensive adults[J]. Journal of the American Heart Association, 2023, 12(4): e027568.