

## 柴归颗粒动态调控 CUMS 大鼠尿液代谢标志物抗抑郁机制研究

胡婷<sup>1,2</sup>, 吴振宁<sup>1,2</sup>, 许腾<sup>1,2</sup>, 周玉枝<sup>1,2</sup>, 高晓霞<sup>1,2</sup>, 秦雪梅<sup>1,2</sup>, 田俊生<sup>1,2\*</sup>

1. 山西大学 中医药现代研究中心, 山西 太原 030006

2. 地产中药功效物质研究与利用山西省重点实验室, 山西 太原 030006

**摘要:** 目的 基于<sup>1</sup>H-NMR动态代谢组学和整合网络药理学探究柴归颗粒调控慢性温和不可预知应激(CUMS)大鼠尿液代谢标志物发挥抗抑郁作用的关键途径和潜在靶点。方法 除对照组外, 各组大鼠均进行7周CUMS造模, 前4周仅造模, 后3周ig给药1h后造模并对盐酸文拉法辛(35 mg·kg<sup>-1</sup>)组和柴归颗粒(8.3 g·kg<sup>-1</sup>)组进行药物干预, 通过称体质量、糖水偏爱实验、强迫游泳实验研究柴归颗粒的抗抑郁作用; 收集各组大鼠不同时间节点的尿液, 采用<sup>1</sup>H-NMR代谢组学监测柴归颗粒给药过程中尿液代谢标志物的动态变化规律, 整合网络药理学分析挖掘其治疗抑郁症的关键途径和潜在靶点。结果 与模型组比较, 柴归颗粒显著增加大鼠的体质量( $P < 0.05$ ), 显著升高糖水偏爱率( $P < 0.01$ ), 显著减少游泳不动时间( $P < 0.05, 0.01$ ); 柴归颗粒可以动态调控天冬氨酸等10个尿液代谢标志物接近正常水平, 且不同代谢物回调至正常水平的给药周期不同, 泛酸、马尿酸含量在柴归颗粒给药1周后显著回调( $P < 0.05, 0.01$ ); 蛋氨酸、甲胺和天冬氨酸含量在柴归颗粒给药2周后显著回调( $P < 0.01$ ); 2-酮戊二酸、牛磺酸、丁酸、赖氨酸和乳酸含量在柴归颗粒给药3周后显著回调( $P < 0.05, 0.01$ )。同时, 网络药理学分析结果表明柴归颗粒可能通过调控丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢这一关键途径发挥疗效, 且其代谢途径上的GPT、GLUD1、GLUD2、GOT2等4个靶点可能是柴归颗粒治疗抑郁症的潜在靶点。结论 柴归颗粒可能通过调控丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢这一关键途径发挥抗抑郁作用。

**关键词:** 柴归颗粒; 慢性温和不可预知应激; 代谢组学; 网络药理学分析; 尿液代谢标志物; 动态变化; 丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2024)10-2287-14

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2024.10.008

## Study on antidepressant mechanism of Chaigui Granules on urine metabolic marker of CUMS rats

HU Ting<sup>1,2</sup>, WU Zhenning<sup>1,2</sup>, XU Teng<sup>1,2</sup>, ZHOU Yuzhi<sup>1,2</sup>, GAO Xiaoxia<sup>1,2</sup>, QIN Xuemei<sup>1,2</sup>, TIAN Junsheng<sup>1,2</sup>

1. Contemporary Research Center of Chinese Medicine, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

2. Key Laboratory of Research and Utilization of Functional Substances of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030006, China

**Abstract:** **Objective** <sup>1</sup>H-NMR dynamic metabolomics and integrated network pharmacology were used to explore the key pathways and potential targets of Chaigui Granules (CGG) in regulating the antidepressant effect of chronic unpredictable mild stress (CUMS) rats urinary metabolic markers. **Methods** Except the control group, CUMS model was made in all groups for 7 weeks, and only in the first 4 weeks, 1 hour after ig administration for 3 weeks, the model was established and the drug intervention was carried out in venlafaxine (35 mg·kg<sup>-1</sup>) and CGG (8.3 g·kg<sup>-1</sup>), study the antidepressant effect of CGG through body weight, sugar water preference experiment, and forced swimming experiment. The urine was collected at different time points. <sup>1</sup>H-NMR metabolomics was used to monitor the dynamic changes of urinary metabolic markers during the administration of CGG, and to explore the key pathways and potential targets of CGG in the treatment of depression by integrated biological network analysis. **Results** Compared with the model group, CGG significantly increased the body weight of rats ( $P < 0.05$ ), significantly increased the sugar water preference rate ( $P < 0.01$ ), and significantly reduced the swimming immobility time ( $P < 0.05, 0.01$ ). The results showed that CGG could dynamically modulate 10 urinary metabolic markers such as Aspartate to near normal levels, and the administration cycle of different metabolites to normal levels was different. The levels of pantothenate and hippurate were significantly reduced one week after CGG

收稿日期: 2024-06-09

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(82374153); 山西省基础研究计划项目(202103021224026)

第一作者: 胡婷(1999—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药药理作用机制。E-mail: ht19990529@126.com

\*通信作者: 田俊生, 男, 博士, 副教授, 研究方向为中药药理与新药研发。E-mail: jstian@sxu.edu.cn

administration ( $P < 0.05, 0.01$ ). Methionine, methylamine and aspartate were significantly reduced two weeks after CGG administration ( $P < 0.01$ ), 2-oxoglutarate, taurine, butyrate, lysine and lactic acid were significantly reduced after three weeks of CGG administration ( $P < 0.05, 0.01$ ). At the same time, the results of network pharmacology analysis indicated that CGG might exert its therapeutic effect by adjusting the key pathway of alanine, aspartate and glutamate metabolism, the four targets of GPT, GLUD1, GLUD2 and GOT2 in the metabolic pathway may be potential targets of CGG in the treatment of depression. **Conclusion** This study explored the mechanism of CGG in the treatment of depression from  $^1\text{H-NMR}$  dynamic metabolomics and biological network analysis, and provided a scientific theoretical basis for the clinical application of CGG.

**Key words:** Chaigui Granules; chronic unpredictable mild stress; metabolomics; biological network analysis; urinary metabolic markers; dynamic changes; alanine, aspartate and glutamate metabolism

抑郁症是一种复杂的心理健康疾病,其特征表现为情绪低落、低沉悲观,严重影响个人学习、生活和社交等社会功能。到目前为止,抗抑郁药物长期使用会带来一系列副作用,例如精神运动障碍和依赖、骨质流失、性功能障碍和诱发心脑血管疾病等<sup>[1-3]</sup>。因此,高效、安全、稳定抗抑郁药物的研发迫在眉睫。

柴归颗粒是依据宋代中医方剂学著作《太平惠民和剂局方》中经典方剂逍遥散通过汤剂临床观察、药理药效实验、化学成分分析等,剔除原方中生姜和茯苓两味药材得到的抗抑郁中药复方新药,已获国家药物临床试验批件(批件号2018L03149),并且已经完成了IIa期临床试验。

常用的代谢组学技术以指标分析为基础,高通量检测为手段,是系统生物学的重要组成部分<sup>[4]</sup>。其主要包括核磁共振(NMR)<sup>[5-6]</sup>、液相色谱-质谱联用(LC-MS)<sup>[7]</sup>和气相色谱法-质谱联用(GC-MS)<sup>[8]</sup>。与其他组学比较,NMR技术可对样本进行无损检测,有着良好的实验重复性和精准鉴定性,能够表征外界干扰或内在因素影响下机体中代谢产物的动态变化。因此,在药物毒性研究、新药安全性评价、疾病诊断等领域发挥着重要作用<sup>[9]</sup>。

近年来,针对抑郁症动物模型代谢组学轮廓变化的研究较多,但对于哪些代谢物可表现出持续性的变化及其具体规律还没有达成普遍共识。除此之外,生物体是一个庞大而复杂的代谢网络,为系统地阐明疾病的发病机制,需要结合网络药理学分析等新方法共同探究生物分子的复杂性和相互作用关系。Xu等<sup>[10]</sup>使用代谢网络、蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)和药物靶向网络来研究阿尔茨海默病小鼠模型和患者之间大脑中的单细胞数据,结果表明相关代谢物的改变可以引起疾病的变化。因此,从代谢组学和网络药理学分析两方面研究中药复杂系统的整体调控具有深远意义。

本研究运用核磁共振代谢组学技术探究柴归

颗粒对慢性不可预知应激模型(CUMS)抑郁大鼠尿液代谢标志物和代谢途径的调节作用,并动态监测其给药前后不同代谢产物的变化情况。最后,结合网络药理学分析工具对柴归颗粒调控的尿液代谢标志物进行综合分析,寻找其抗抑郁作用的潜在靶点。

## 1 材料

### 1.1 实验动物

6~7周龄SPF级雄性SD大鼠48只,体质量为180~220 g,由Charles River提供,动物生产许可证号为SCXK(京)2016-0011。将大鼠饲养于具备良好自然节律和光照条件的环境中,温度( $25 \pm 2$ ) $^{\circ}\text{C}$ ,相对湿度( $50 \pm 10$ )%,让其自由饮食饮水,适应性饲养7 d后开始实验。动物实验经山西大学科学研究伦理审查委员会批准(批准文号CSRSX-2017LL-006)。

### 1.2 药物与主要试剂

柴胡、当归、白芍、炒白术、炙甘草、薄荷,购于山西省和仁堂有限公司,经山西大学中医药现代研究中心秦雪梅教授鉴定分别为伞形科植物柴胡 *Bupleurum chinense* DC. 的干燥根、伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根、毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根、菊科植物白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz. 的干燥根茎、豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎、唇形科植物薄荷 *Mentha haplocalyx* Briq. 的干燥地上部分,鉴定结果符合《中国药典》2020年版规定。委托山西省中医研究院制剂中心将柴胡、当归、白芍、炒白术、炙甘草、薄荷6种中药以6:6:6:6:3:2的比例经提取浓缩干燥制得柴归颗粒制剂(每袋10 g,批号20181009)。课题组前期研究建立了柴归颗粒的指纹图谱并通过对照品指认出芍药内酯苷、甘草苷、芍药苷、甘草酸铵、阿魏酸、柴胡皂苷a、柴胡皂苷b<sub>2</sub>、白术内酯I、白术内酯II、白术内酯III、欧前胡素以及藁本内酯这12种化学成分<sup>[11]</sup>。同

时,将柴胡皂苷 a、b<sub>1</sub>、b<sub>2</sub>、d 和芍药苷作为柴归颗粒的质控标准<sup>[11-12]</sup>。经 HPLC 方法测得柴胡皂苷 a、b<sub>1</sub>、b<sub>2</sub>、d 的总质量分数为 0.68%,芍药苷的质量分数为 0.98% 以上。盐酸文拉法辛胶囊(每粒 25 mg,批号 181203)购自成都康弘药业集团股份有限公司。

### 1.3 主要实验仪器

核磁共振检测仪(型号 Bruker 600 MHz AVANCE III),由德国布鲁克公司提供;低温高速离心机(型号 TDL-5),由安徽中科中佳科学仪器有限公司提供;超纯水系统(型号 Milli-Q),由美国 Millipore 公司提供;大鼠旷场测试箱(100 cm×100 cm×50 cm,内壁黑色,底部被均匀分为 25 格),由实验室自制;大鼠游泳透明亚克力测试桶(直径 21 cm,高 49.5 cm),由太原精美亚克力有限公司提供。

## 2 方法

### 2.1 CUMS 模型制备、分组与给药

除对照组外,其余大鼠均依据 Willner 等<sup>[13]</sup>的 CUMS 造模程序并结合本实验室前期基础造模 49 d。此外,在实验结束前 3 周对各组大鼠进行药物干预,于给药 1 h 后进行造模,见图 1。课题组前期通过 CUMS 模型对柴归颗粒的抗抑郁作用进行反复多次实验,通过体质量实验、糖水偏爱实验、强迫游泳实验、旷场实验等对其抗抑郁作用进行评价,结果发现 8.3 g·kg<sup>-1</sup>(以生药量计)是柴归颗粒抗抑郁作用的最佳给药剂量<sup>[14-15]</sup>。

### 2.2 行为学观察

**2.2.1 体质量及糖水偏爱率测定** 从适应性喂养到实验结束,每周称量 1 次体质量。在实验第 7、35、56 天对大鼠糖水消耗情况进行测试。

糖水偏爱率=蔗糖水消耗量/总饮水消耗量

**2.2.2 旷场实验** 在实验第 7、35、56 天进行旷场实验,总时长 5 min,确保旷场箱干净无味后开始。首先统计大鼠的中央格停留时间;待适应 1 min 后,记录后 4 min 内大鼠的穿越格数以及直立次数。结束后要及时清理动物遗留下来的粪便和尿液。

**2.2.3 强迫游泳实验** 为确保大鼠能顺利完成强迫游泳实验,正式实验前先进行 1 d 的游泳训练,于测试前适应 2 min 后开始记录 4 min 内大鼠头部漂浮于水面且无明显挣扎的总时长。

**2.2.4 统计学分析** 数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示,利用 SPSS 16.0 和 GraphPad Prism 9.0 软件进行统计分析和图表绘制,通过 one-way ANOVA 分析和 *t* 检验进行不同组之间的差异比较。

### 2.3 代谢组学

**2.3.1 样本收集与制备** 自适应性喂养结束当天,每周分别收集各组大鼠 12 h 尿液,共计 8 个时间点。收集结束后将尿液样本在 4 °C 下、3 500 r·min<sup>-1</sup> 离心 15 min,然后将其上清分离出来并分装到 -80 °C 的超低温冰箱保存。

尿液样本预处理:精密吸取 500 μL 在 4 °C 下解冻的样本于 1.5 mL EP 管中,添加 200 μL 含 0.1% 磷酸三钠(TSP)的磷酸缓冲液(0.2 mol·L<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 10% D<sub>2</sub>O 溶液),经过 30 s 涡旋振荡混匀后,在 4 °C 下、以 13 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 20 min,最后吸取适量上清液于核磁管中待测。

**2.3.2 <sup>1</sup>H-NMR 检测与图谱处理** 利用 Bruker 600 MHz AVANCE III 核磁共振检测仪(21 °C)对尿液样本进行检测。检测方法采用 NOESY-GPPR1D 脉冲序列,依次将检测谱宽、扫描次数、FID 分辨率、混合时间、延迟时间、采样点参数分别设置为 12 345.7 Hz、

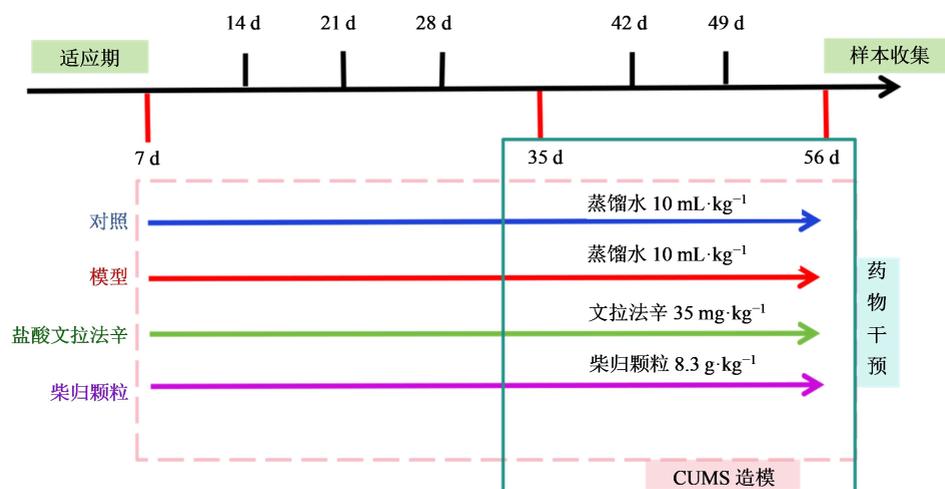


图1 动物实验流程示意图

Fig. 1 Flow chart of animal experiment

64次、0.3 Hz、0.1 s、1.0 s、65 536。

通过 MestReNova 核磁图谱数据处理软件,将尿液 <sup>1</sup>H-NMR 图谱进行傅里叶转换。以 TSP 的化学位移  $\delta=0$  定标,进行手动相位和基线的调整。以 0.01 为单位的等宽度分割进行分段积分,切除  $\delta(4.70\sim 5.10)\times 10^{-6}$  的水峰和  $\delta(5.50\sim 6.00)\times 10^{-6}$  的尿素峰。之后将所有数据归一化处理,存储在 Excel 表格中,以便于后续进行多元统计分析。

在 SIMCA-P 14.1 软件中进行主成分分析(PCA)和正交偏最小二乘法分析(OPLS-DA),有效地将积分数据按照不同的特征进行分类,以  $VIP>1$  且  $P<0.05$  筛选差异代谢物。然后,利用 SPSS 16.0 和 GraphPad Prism 9.0 软件进行统计分析和图表绘制,通过 one-way ANOVA 分析和 *t* 检验进行不同组之间的差异比较,使尿液代谢标志物可视化呈现。同时,将各组比较筛选出的相关代谢物导入 MetaboAnalyst 6.0 (<https://www.metaboanalyst.ca/>)中,对 Pathway analysis 和 Pathway library 进行设置,依据  $Impact>0.1$  和  $P<0.05$  筛选出潜在相关通路。

最后进行尿液代谢标志物与行为学指标 Spearman 相关性分析,深入研究柴归颗粒干预后尿液代谢标志物变化与行为学指标之间的潜在相关性。

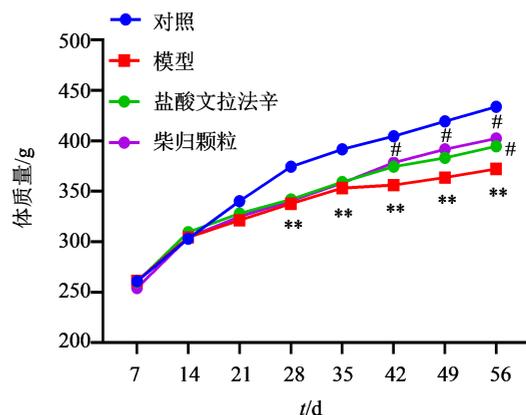
## 2.4 尿液代谢标志物网络药理学的构建与分析

将柴归颗粒调控的氨基酸类及其衍生物、有机酸类、胺类等 10 种尿液代谢标志物引入 Cytoscape 3.9.1 软件的 Metscape 插件中以获得代谢标志物相关基因。GeneCards 和 OMIM 数据库被用来筛选与抑郁症相关的疾病基因,去除重复基因可以发现代谢标志物与抑郁症之间的交叉基因。使用京都基因与基因组百科全书(KEGG)和 STRING 在线数据库对筛选出的交叉基因进行通路富集分析并构建蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络。为进一步获得柴归颗粒治疗抑郁症的前 10 位潜在靶基因,将互作网络导入 Cytoscape 3.9.1 软件中的 CytoHubba 插件进行网络节点排序。

## 3 结果

### 3.1 行为学观察

**3.1.1 柴归颗粒对 CUMS 模型大鼠体质量的影响** 结果如图 2 所示,实验第 28 天(造模第 3 周)起,模型组大鼠体质量较对照组明显下降( $P<0.01$ );与模型组比较,盐酸文拉法辛在实验第 56 天能显著增加大鼠的体质量( $P<0.05$ );柴归颗粒在实验第 42、49、

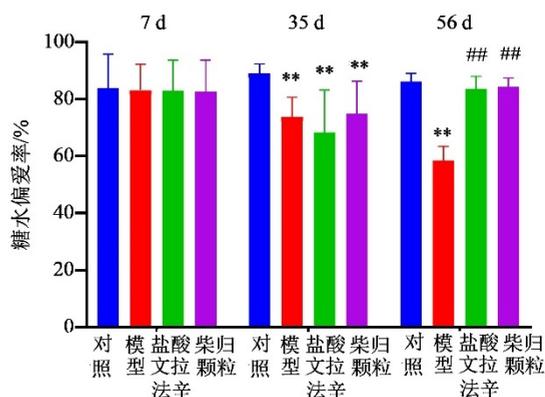


与对照组比较:\*\* $P<0.01$ ;与模型组比较:# $P<0.05$ 。  
\*\* $P<0.01$  vs control group; # $P<0.05$  vs model group.

图 2 柴归颗粒对 CUMS 大鼠体质量的影响( $\bar{x}\pm s, n=12$ )  
Fig. 2 Effect of CGG on body weight of CUMS rats ( $\bar{x}\pm s, n=12$ )

56 天均能显著增加大鼠的体质量( $P<0.05$ ),且效果优于盐酸文拉法辛。

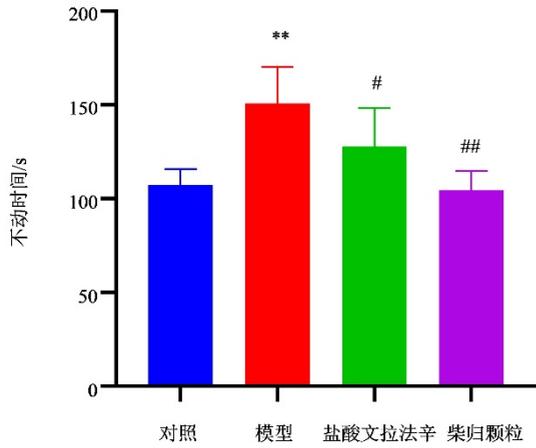
**3.1.2 柴归颗粒对 CUMS 大鼠糖水偏爱率的影响** 糖水偏好实验原理是基于啮齿动物对甜食的天生偏好。如图 3 所示,与对照组比较,适应期结束后,在实验第 35、56 天,模型组大鼠糖水偏爱率显著降低( $P<0.01$ );与模型组比较,在实验第 56 天各给药组的糖水偏爱率均显著升高( $P<0.01$ )。结果表明,柴归颗粒和盐酸文拉法辛均能有效缓解 CUMS 应激给大鼠带来的快感缺失症状。



与对照组比较:\*\* $P<0.01$ ;与模型组比较:## $P<0.01$ 。  
\*\* $P<0.01$  vs control group; ## $P<0.01$  vs model group.

图 3 柴归颗粒对 CUMS 大鼠糖水偏爱率的影响( $\bar{x}\pm s, n=9$ )  
Fig. 3 Effect of CGG on sugar water preference rate of CUMS rats ( $\bar{x}\pm s, n=9$ )

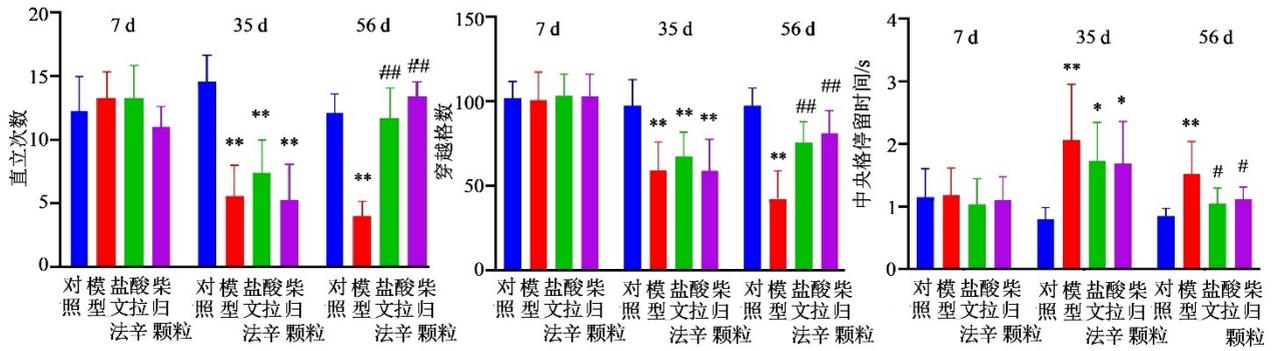
**3.1.3 柴归颗粒对 CUMS 大鼠强迫游泳实验的影响** 通过强迫游泳实验发现,当大鼠被放入装满水的容器中时,它们首先会尝试逃离,后期的不动时间可以代表抑郁的严重程度。结果如图 4 所示,



与对照组比较: \*\* $P < 0.01$ ; 与模型组比较: # $P < 0.05$  ## $P < 0.01$ 。  
\*\* $P < 0.01$  vs control group; # $P < 0.05$  ## $P < 0.01$  vs model group.  
图4 柴归颗粒对CUMS大鼠强迫游泳实验的影响( $\bar{x} \pm s, n=7$ )  
Fig. 4 Effect of CGG on forced swimming in CUMS rats ( $\bar{x} \pm s, n=7$ )

CUMS 刺激程序的应用可以使大鼠产生绝望情绪,造模7周后的模型大鼠游泳不动时间较对照组显著增加( $P < 0.01$ )。与模型组比较,盐酸文拉法辛和柴归颗粒均能显著减少大鼠游泳不动时间( $P < 0.05, 0.01$ )。

3.1.4 柴归颗粒对CUMS大鼠旷场实验的影响 旷场实验用于评估大鼠的一般活动水平和探索能力。由图5可知,CUMS造模前各组大鼠旷场测试3项指标均无显著性差异。在实验第35天,与对照组比较,模型大鼠的直立次数和穿越格数均显著降低( $P < 0.01$ ),中央格停留时间显著增加( $P < 0.01$ )。经过3周的药物干预,与模型组比较,盐酸文拉法辛组和柴归颗粒组大鼠的中央格停留时间明显缩短( $P < 0.05$ ),直立次数和穿越格数显著增加( $P < 0.01$ )。



与对照组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$ ; 与模型组比较: # $P < 0.05$  ## $P < 0.01$ 。  
\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  vs control group; # $P < 0.05$  ## $P < 0.01$  vs model group.  
图5 柴归颗粒对CUMS大鼠直立次数、穿越格数、中央格停留时间的影响( $\bar{x} \pm s, n=7$ )  
Fig. 5 Effects of CGG on standing times, crossing lattice number and central lattice residence time in CUMS rats ( $\bar{x} \pm s, n=7$ )

### 3.2 代谢组学结果

3.2.1 <sup>1</sup>H-NMR 图谱的指认与分析 通过与参考文献、化合物数据库如HMDB(<http://www.hmdb.ca/>)和BMRB(<http://www.bmrwisc.edu/>)中收录的相关代谢物信息进行比较,最终共指认出24种内源性代谢物,包括氨基酸类及其衍生物(谷氨酸)、胺类(甲胺)、有机酸类(丁酸)等,具体信息见图6和表1。

3.2.2 多元统计分析 采用无监督的PCA方法进行代谢轮廓分析,结果如图7所示,综合药效指数和相对距离发现CUMS抑郁模型复制成功;盐酸文拉法辛组和柴归颗粒组均能回调CUMS大鼠的尿液代谢轮廓,且给药结束后柴归颗粒组与对照组基本重合。

如图8所示,采用OPLS-DA方法对模型组和对照组进行分析,得到OPLS-DA得分图(A)和S-plot

图(B)。从模型验证结果(图9)可以看出,左侧所有 $Q^2$ 值低于右侧原始点或 $Q^2$ 的回归线与纵轴相交数值小于零,证明OPLS-DA模型有效。

3.2.3 尿液代谢标志物筛选及柴归颗粒动态调控 通过S-plot图结合VIP值 $> 1$ 且 $P < 0.05$ ,发现10个相对峰面积存在明显差异的尿液代谢标志物,柴归颗粒的动态调控如图10所示。由图可知,随着造模时间的推移,2-酮戊二酸、牛磺酸、丁酸、蛋氨酸、泛酸和赖氨酸这6种代谢物含量逐渐降低,在实验第35天多降至最低点( $P < 0.01$ )。其中,2-酮戊二酸、牛磺酸、丁酸、赖氨酸( $P < 0.01$ )在柴归颗粒给药3周后(实验第56天)接近正常水平;蛋氨酸( $P < 0.01$ )在柴归颗粒给药2周后接近正常水平;泛酸( $P < 0.05$ )在柴归颗粒给药1周后接近正常水平。同时,乳酸、甲胺、天冬氨酸和马尿酸这4种代谢物水平在柴归颗粒给药前逐渐升高,在实验第35天升

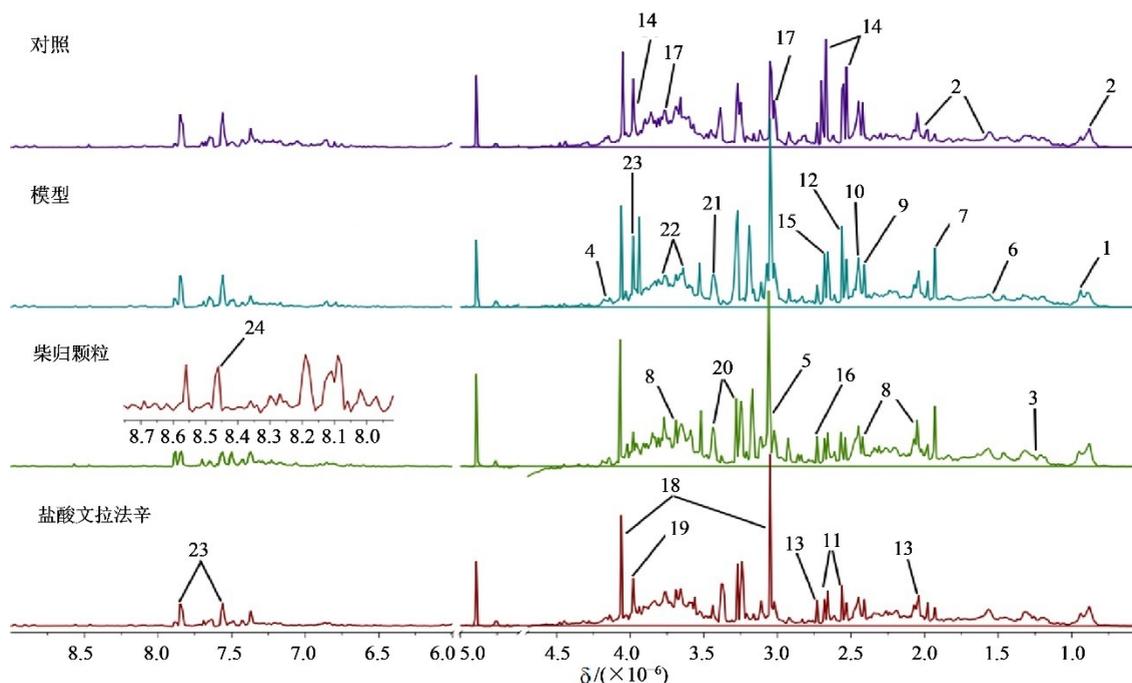


图 6 各组大鼠尿液样本典型<sup>1</sup>H-NMR 图谱

Fig. 6 Typical <sup>1</sup>H-NMR spectrum of rat urine in each group

表 1 大鼠尿液样本<sup>1</sup>H-NMR 数据归属

Table 1 <sup>1</sup>H-NMR data assignment of rat urine samples

序号	代谢物	部分基团	$\delta_{\text{H}}$
1	泛酸(pantothenate)	CH <sub>3</sub>	0.94(s)
2	丁酸(butyrate)	CH <sub>3</sub> , $\beta$ CH <sub>2</sub> , $\alpha$ CH <sub>2</sub>	0.90(t, $J=7.2$ Hz), 1.56(m), 2.15(t, $J=6.0$ Hz)
3	3-羟基丁酸(3-hydroxybutyric acid)	CH <sub>3</sub>	1.21(d, $J=6.2$ Hz)
4	乳酸(lactate)	$\alpha$ CH, $\beta$ CH <sub>3</sub>	1.34(d, $J=6.96$ Hz), 4.12(q, $J=6.93$ Hz)
5	赖氨酸(lysine)	$\alpha$ CH, $\beta$ CH <sub>2</sub> , $\delta$ CH <sub>2</sub>	1.72(m), 1.90(m), 3.04(t, $J=7.8$ Hz)
6	丙氨酸(alanine)	$\beta$ CH <sub>3</sub>	1.49(d, $J=7.3$ Hz)
7	醋酸盐(acetate)	CH <sub>3</sub> , $\beta$ CH <sub>2</sub> , $\alpha$ CH <sub>2</sub>	1.93(s)
8	谷氨酸(glutamate)	$\alpha$ CH, $\beta$ CH <sub>2</sub> , $\gamma$ CH <sub>2</sub>	3.75(m), 2.08(m), 2.36(m)
9	丙酮酸(paruvate)	CH <sub>3</sub>	2.38(s)
10	2-酮戊二酸(2-oxoglutarate)	$\alpha$ CH <sub>2</sub> , $\beta$ CH <sub>2</sub>	2.45(t, $J=6.95$ Hz), 3.02(t, $J=6.84$ Hz)
11	柠檬酸盐(citrate)	CH <sub>2</sub> , CH <sub>2</sub>	2.54(d, $J=15.0$ Hz), 2.66(d, $J=15.0$ Hz)
12	甲胺(methylamine)	CH <sub>3</sub>	2.61(s)
13	蛋氨酸(methionine)	CH <sub>2</sub> , CH <sub>3</sub>	2.64(t, $J=7.7$ Hz), 2.14(s)
14	天冬氨酸(aspartate)	$\alpha$ CH, $\beta$ CH <sub>2</sub>	2.69(m), 2.81(m), 3.91(m)
15	二甲胺(dimethylamine)	NCH <sub>3</sub>	2.72(s)
16	甲基胍(methylguanidine)	CH <sub>3</sub>	2.83(s)
17	二甲基甘氨酸(dimethylglycine)	CH <sub>2</sub> , CH <sub>2</sub>	2.98(s), 3.70(s)
18	肌酐(creatinine)	CH <sub>3</sub> , CH <sub>2</sub>	3.03(s), 4.05(s)
19	肌酸(creatine)	CH <sub>3</sub> , CH <sub>2</sub>	3.04(s), 3.93(s)
20	牛磺酸(taurine)	CH <sub>2</sub> , CH <sub>2</sub>	3.24(t, $J=6.57$ Hz), 3.42(t, $J=6.62$ Hz)
21	氧化三甲胺(trimethylamine oxide)	CH <sub>3</sub>	3.27(s)
22	甘油(glycerol)	CH <sub>3</sub> , CH	3.59(m), 3.66(m)
23	马尿酸(hippurate)	CH <sub>2</sub> , CH, CH, CH	3.95(d, $J=5.84$ Hz), 7.55(m), 7.64(m), 7.84(m)
24	甲酸酯(formate)	CHO	8.46(s)

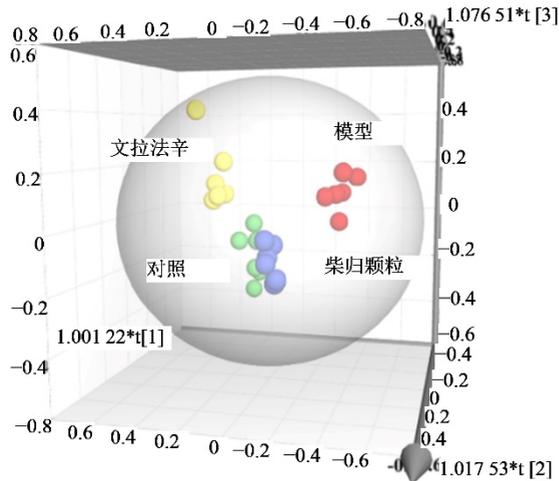


图7 各组大鼠尿液样本<sup>1</sup>H-NMR谱3D-PCA分析散点图  
Fig. 7 Scatter plot of <sup>1</sup>H-NMR spectra and 3D-PCA analysis in urine of rats in each group

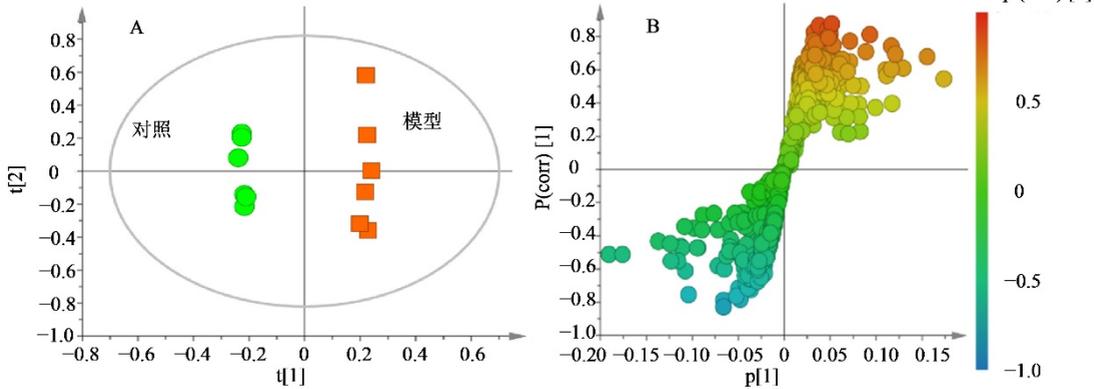


图8 对照组和模型组大鼠尿液样本OPLS-DA散点图(A)和相对应的S-plot图(B)  
Fig. 8 OPLS-DA scatters plot (A) and corresponding S-plot (B) of urine of rats in control and model groups

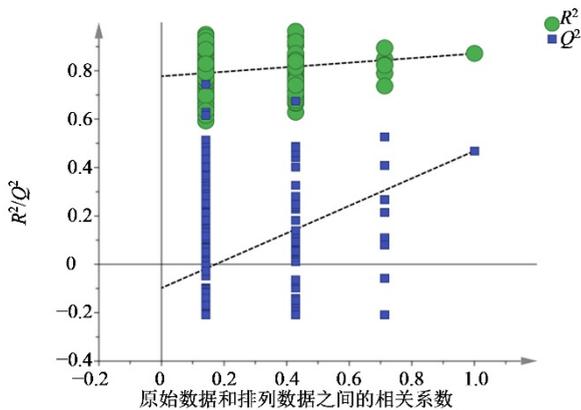


图9 对照组和模型组大鼠尿液样本模型验证图  
Fig. 9 Model permutation plot of urine sample of rats in control and model groups

谢(taurine and hypotaurine metabolism)和丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢(alanine, aspartate and

至最高点( $P < 0.05, 0.01$ )。其中乳酸( $P < 0.05$ )在柴归颗粒给药3周后接近正常水平;甲胺、天冬氨酸( $P < 0.01$ )在柴归颗粒给药2周后接近正常水平;马尿酸( $P < 0.01$ )在柴归颗粒给药1周后接近正常水平。

3.2.4 代谢通路分析 由图11-A及表2可知, CUMS造模后引起变化的代谢通路主要包括:(1) D-谷氨酰胺和D-谷氨酸代谢(D-glutamine and D-glutamate metabolism);(2)丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢(alanine, aspartate and glutamate metabolism);(3)丙酮酸代谢(pyruvate metabolism);(4)TCA循环(TCA cycle);(5)糖酵解/糖异生(glycolysis/gluconeogenesis);(6)精氨酸生物合成(argininic acid biosynthesis)等。而柴归颗粒给药后能引起变化的通路有牛磺酸和次牛磺酸代

glutamate metabolism)等,见图11-B及表3。

3.2.5 尿液代谢标志物与行为学指标 Spearman相关性分析 通过计算 Spearman相关性系数,深入研究柴归颗粒干预后尿液代谢标志物变化与行为学指标之间的潜在相关性。如图12所示,一些尿液代谢标志物和多种行为学指标之间显著相关( $|r| > 0.6$ 和 $P < 0.05$ )。其中,丁酸和蛋氨酸与体质量呈显著正相关( $P < 0.01$ );2-酮戊二酸、蛋氨酸、牛磺酸与中央格停留时间呈显著负相关( $P < 0.01$ );天冬氨酸、乳酸和甲胺与中央格停留时间呈显著正相关( $P < 0.01$ ),甲胺与游泳不动时间呈显著正相关( $P < 0.01$ );蛋氨酸与穿越格数呈显著正相关( $P < 0.01$ )。

尿液代谢标志物的变化与行为学指标之间存在一定相关性,但行为学指标是否直接受尿液代谢标志物动态变化的影响需要进一步的探究。

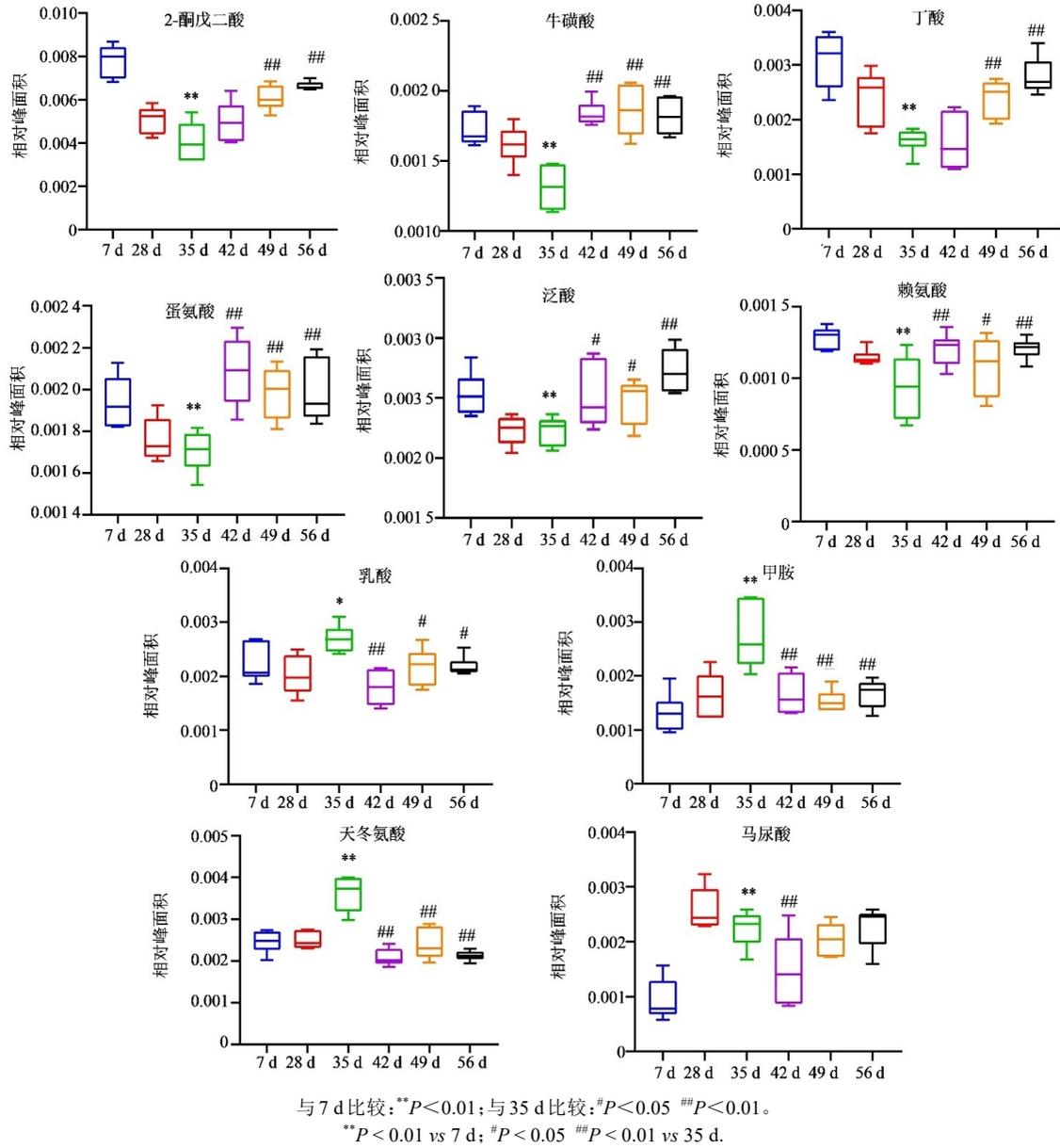
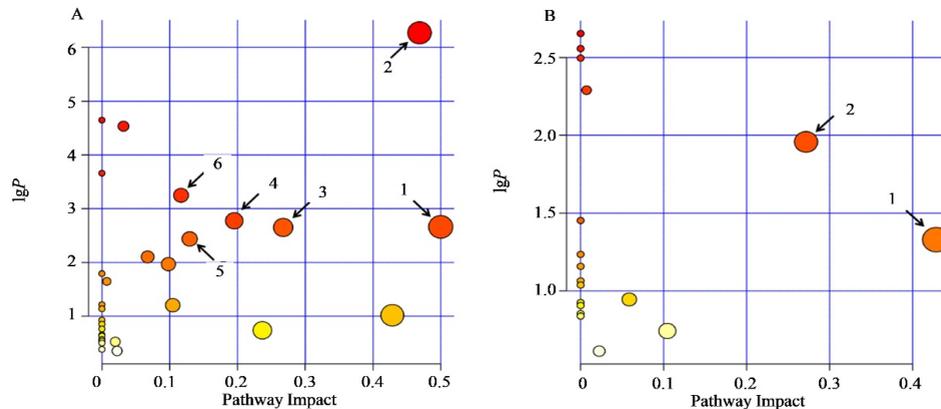


图 10 柴归颗粒干预前后尿液代谢标志物的动态变化 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Fig. 10 Dynamic changes of urinary metabolic markers before and after CGG intervention ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )



A 图 1~6 通路名称见表 2; B 图 1~2 通路名称见表 3。

Names of pathways 1—6 in figure A were shown in Table 2; Names of pathways 1—2 in figure B were shown in Table 3.

图 11 对照组与模型组(A)和柴归颗粒组与模型组(B)相关代谢物 MetPA 通路分析

Fig. 11 MetPA pathway analysis of relevant metabolite between control and model group (A) and CGG and model group (B)

表 2 对照组与模型组相关代谢物 MetPA 通路分析

Table 2 MetPA pathway analysis between control group and model group

编号	通路名称	P	Impact
1	D-谷氨酰胺和D-谷氨酸代谢(D-glutamine and D-glutamate metabolism)	0.002	0.50
2	丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢(alanine, aspartate and glutamate metabolism)	<0.001	0.47
3	丙酮酸代谢(pyruvate metabolism)	0.002	0.27
4	TCA 循环(TCA cycle)	0.002	0.20
5	糖酵解/糖异生(glycolysis/gluconeogenesis)	0.004	0.13
6	精氨酸生物合成(arginine biosynthesis)	<0.001	0.12

表 3 柴归颗粒组与模型组相关代谢物 MetPA 通路分析

Table 3 MetPA pathway analysis between CGG group and model group

编号	通路名称	P	Impact
1	牛磺酸和次牛磺酸代谢(taurine and hypotaurine metabolism)	0.002	0.50
2	丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢(alanine, aspartate and glutamate metabolism)	0.010	0.27

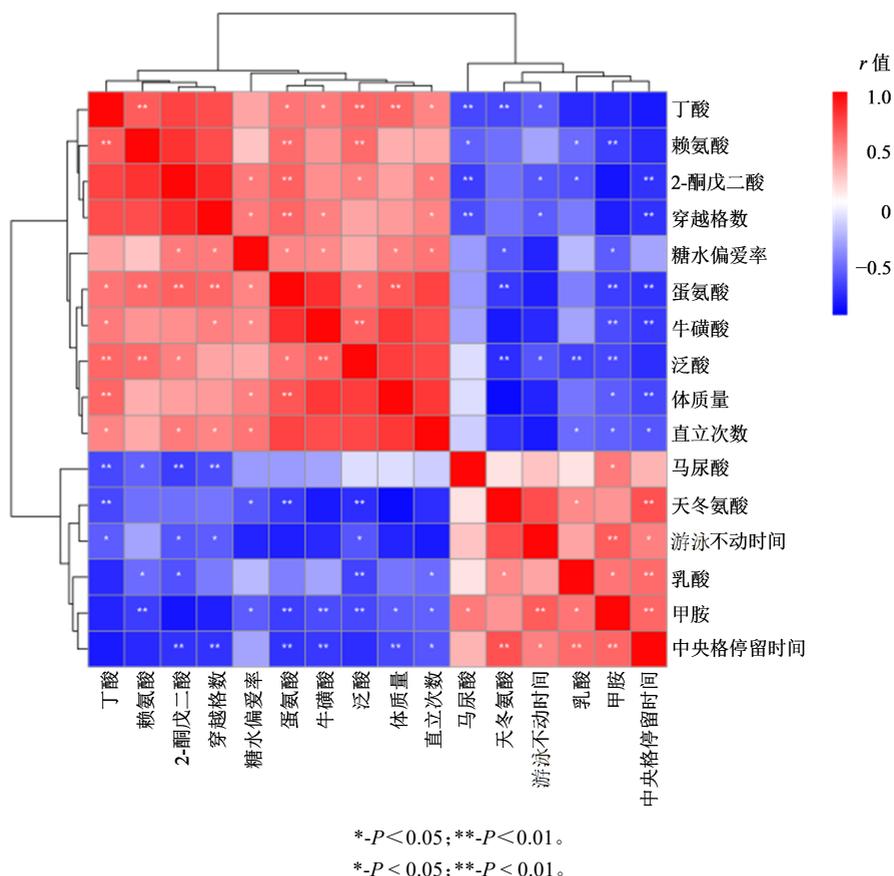


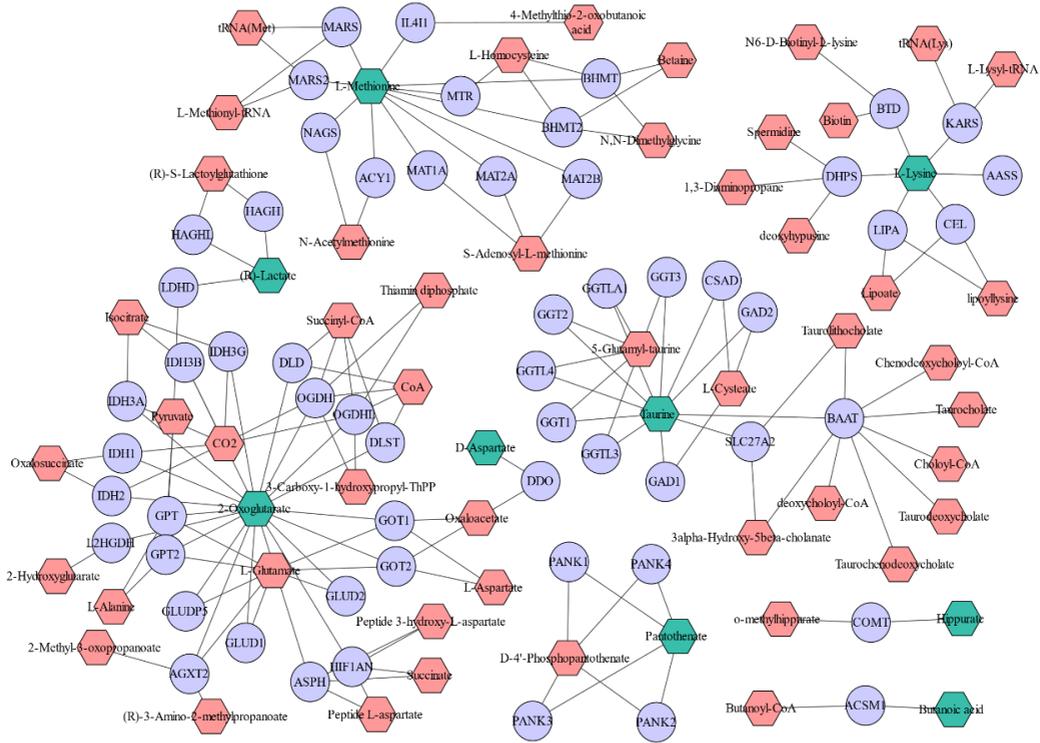
图 12 抑郁症行为学指标与代谢标志物相关性分析

Fig. 12 Correlation analysis of behavioral indicators and metabolic markers in depression

### 3.3 尿液代谢标志物网络药理学分析

通过构建“尿液代谢标志物-基因”相关网络图(图 13),共得到代谢标志物相关基因 58 个,进一步挖掘柴归颗粒治疗抑郁症的新靶点、新途径。在 GeneCards 和 OMIM 数据库中输入关键词“抑郁症”

检索疾病相关基因,共得到 12 094 个疾病相关基因。其中,代谢标志物相关基因和疾病相关基因的交集靶点共 39 个。通过 Cluego 和 CluePedia 插件的通路富集,发现柴归颗粒可以有效地改善抑郁大鼠的代谢状态,其中涉及到的主要代谢途径有:碳代



绿色六边形-尿液代谢标志物; 浅红色的六边形-相关的代谢物; 浅紫色的圆圈-基因。

Green hexagon-urine metabolic markers; Light red hexagon-related metabolites; Light purple circles-genes.

图 13 柴归颗粒干预 CUMS 抑郁模型大鼠的“尿液代谢标志物-基因”网络

Fig. 13 Effect of CGG on "urine metabolic marker-gene" network in CUMS depression model rats

谢(carbon metabolism), 丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢(alanine, aspartate and glutamate metabolism), 半胱氨酸和蛋氨酸代谢(cysteine and methionine metabolism)以及辅助因子的生物合成(biosynthesis of cofactors)等, 见表 4。结果表明, 碳代谢是最常见的生物学反应, 在所有通路途径中富集的靶点数最多, 丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢次之, 且两者之

间的交集靶点为 GPT、GLUD1、GLUD2、GOT2。

将分析所获得的 39 个交集靶点输入 STRING 在线数据库得到 PPI 网络。基于 CytoHubba 插件中导入的 PPI 网络, 计算节点之间的最大集团中心度并用 MCC 对网络节点进行排序。如图 14 所示, 在网络图中起关键作用的前 10 个蛋白质靶点包括 GOT2、GLUD1、GLUD2、OGDH、IDH1、IDH3G、

表 4 柴归颗粒干预 CUMS 抑郁模型大鼠 KEGG 富集分析

Table 4 KEGG enrichment analysis of CUMS depression model rats treated with CGG

通路	数目	靶点
碳代谢(carbon metabolism)	11	GPT、IDH1、GLUD2、GLUD1、OGDH、DLST、DLD、OGDHL、GOT2、IDH3B、IDH3G
丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢 (alanine, aspartate and glutamate metabolism)	8	GAD1、GAD2、GPT、GLUD2、GLUD1、GOT2、IL4I1、DDO
半胱氨酸和蛋氨酸代谢 (cysteine and methionine metabolism)	7	MTR、MAT1A、GOT2、MAT2A、BHMT、MAT2B、IL4I1
辅助因子的生物合成(biosynthesis of cofactors)	7	PANK2、MAT1A、DLD、MAT2A、PANK1、MAT2B、PANK3
牛磺酸和次牛磺酸代谢(taurine and hypotaurine metabolism)	5	GAD1、GAD2、GGT1、BAAT、CSAD
过氧化物酶体途径(peroxisome)	4	IDH1、BAAT、SLC27A2、DDO
色氨酸代谢(tryptophan metabolism)	3	DLST、DLD、IL4I1
丙酮酸代谢(pyruvate metabolism)	3	DLD、HAGH、LDHD

IDH3B、OGDHL、DLD和GPT。

柴归颗粒可能通过调控丙氨酸、天冬氨酸和谷

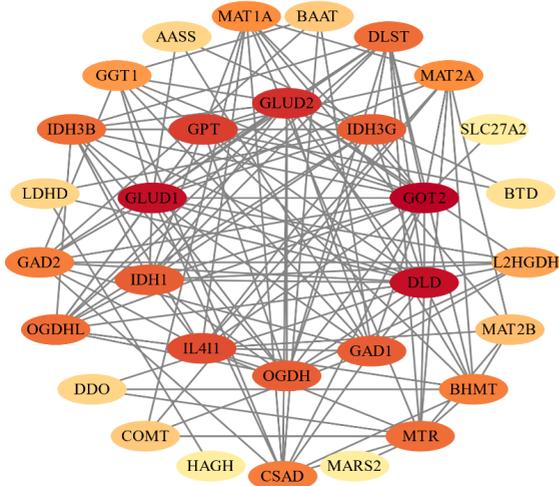


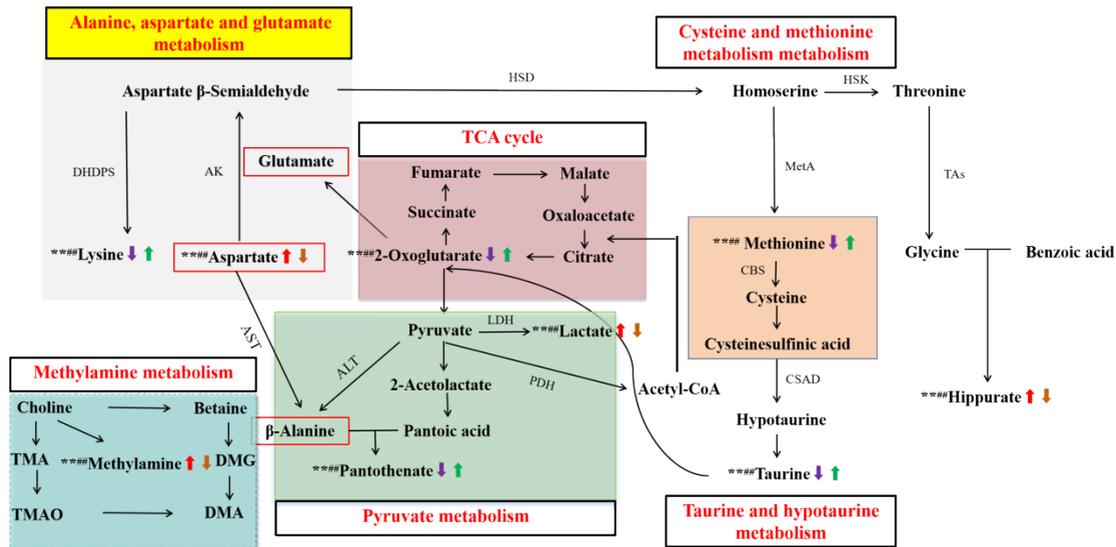
图 14 尿液代谢标志物与抑郁症交集靶点的 PPI 网络  
Fig. 14 PPI network of the intersection targets of urinary metabolic markers and depression

氨酸代谢这一关键途径发挥抗抑郁作用,其代谢途径上的GPT、GLUD1、GLUD2、GOT2 4个靶点可能是柴归颗粒治疗抑郁症的潜在靶点。

#### 4 讨论

代谢异常通常会导致代谢途径功能障碍和代谢产物累积或缺乏,其与受试者的表型连接紧密,可用于疾病的诊断、预防以及监测治疗。本研究中,柴归颗粒调节的代谢物包括马尿酸、赖氨酸、蛋氨酸、天冬氨酸这4种氨基酸类及其衍生物;乳酸、牛磺酸、2-酮戊二酸、泛酸、丁酸这5种有机酸类以及甲胺这一胺类物质,相应的代谢通路见图15。

天冬氨酸不仅仅是一种非必需氨基酸,它还可以作为赖氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、苏氨酸等氨基酸的合成前体,在机体中发挥着重要作用<sup>[16]</sup>。有研究表明,天冬氨酸偏高可能会导致中枢神经系统障碍<sup>[17-18]</sup>。当机体在抑郁状态下,色氨酸的代谢会转变为以喹啉酸为主,而这种物质作为N-甲基-D-天



↓(紫色)模型组与对照组比较尿液代谢标志物下调,↑(红色)模型组与对照组比较尿液代谢标志物上调,与对照组比较:\*\*P<0.01;↓(橙色)柴归颗粒组与模型组比较尿液代谢标志物下调,↑(绿色)柴归颗粒组与模型组比较尿液代谢标志物上调,与模型组比较:###P<0.01。  
↓(Purple)The levels of urine metabolic markers were down-regulated in model group compared to the control group, \*\*P<0.01 vs control group; ↓(orange)The levels of urine metabolic markers were down-regulated in CGG group compared to the model group, ↑(green)The levels of urine metabolic markers were up-regulated in CGG group compared to the model group, ###P<0.01 vs model group.

图 15 柴归颗粒干预后影响的相关代谢通路变化  
Fig. 15 Effect of CGG on metabolic pathway after intervention

冬氨酸受体的强激动剂,能够显著地增加神经元突触损伤并导致细胞死亡<sup>[19]</sup>。本研究发现,CUMS大鼠尿液中天冬氨酸的水平极显著上升,柴归颗粒干预后使之减少,从而降低神经兴奋毒性,缓解抑郁症状。

2-酮戊二酸在三羧酸能量代谢中扮演着重要角

色,它不仅参与氨基酸、维生素和有机酸的合成,还能够调节其代谢速率<sup>[20-21]</sup>。CUMS大鼠尿液中2-酮戊二酸水平极显著降低,表明其能量代谢紊乱,可能与牛磺酸水平降低有关。柴归颗粒干预后,相应的能量代谢紊乱有所逆转。

蛋氨酸又称甲硫氨酸,作为构成人体的必需氨

氨基酸,它广泛参与蛋白质的合成<sup>[22]</sup>。当蛋氨酸进入机体后,会迅速进入血液并稀释血液中的组胺浓度,避免机体出现剧烈的炎症反应<sup>[23]</sup>。已有研究表明,外源性补充蛋氨酸对抑郁症患者血液中蛋氨酸低浓度具有改善作用<sup>[24]</sup>。由于天冬氨酸是蛋氨酸合成的前体物质,故CUMS大鼠尿液中蛋氨酸水平的降低可能与天冬氨酸合成蛋氨酸的过程中琥珀酰高丝氨酸合成酶(MetA)活性降低有关。

马尿酸主要是苯甲酸在肝脏内解毒的代谢产物,少量的苯甲酸经机体代谢可以变成无害的马尿酸经尿液排出<sup>[25-26]</sup>;在酰基转移酶的作用下,苯甲酸与甘氨酸可以生成马尿酸。本实验CUMS大鼠尿液中马尿酸水平上升可能是由于高丝氨酸激酶、苏氨酸醛缩酶活性升高使其合成前体甘氨酸水平上升。

牛磺酸是一种化学性质稳定的非蛋白氨基酸,对机体神经发育起着重要作用<sup>[27]</sup>。其主要合成场所是肝脏,在海马中牛磺酸合成是通过亚磺酸脱羧酶改变半胱氨酸来实现的<sup>[28]</sup>。由于半胱氨酸是牛磺酸合成前体物质,且半胱氨酸水平又受蛋氨酸调节,故CUMS大鼠尿液中牛磺酸水平显著降低可能与蛋氨酸水平降低有关。柴归颗粒给药后可以回调牛磺酸水平,调节相关氨基酸代谢紊乱。

赖氨酸作为一种必需氨基酸,能提高中枢神经功能,对抑郁症的预防和治疗起着积极作用。赖氨酸在体内可以转化为促进神经传递物质的多巴胺和去甲肾上腺素而改善情绪和心理状态。研究表明,赖氨酸摄入量的增加可以提高抑郁症患者的情绪和睡眠质量<sup>[29]</sup>。本实验中CUMS造模后大鼠尿液赖氨酸水平极显著降低,表明其机体氨基酸代谢失衡,可能是由于天冬氨酸激酶和二氢吡啶二羧酸合成酶活性降低导致的。

泛酸又称维生素B5,属于水溶性维生素,可以维持大脑和中枢神经系统的正常发育<sup>[30]</sup>。在本研究中,CUMS大鼠尿液中泛酸水平明显降低,可能是由于丙氨酸氨基转移酶和天冬氨酸转移酶的活性显著降低所致。柴归颗粒给药能回调这种现象,改善泛酸水平。

乳酸是肠道微生物群的一个重要代谢产物。研究表明,在重度抑郁障碍(MDD)患者中观察到乳酸浓度升高<sup>[31]</sup>。在本实验中,CUMS大鼠尿液中乳酸水平极显著增加,说明机体内糖代谢失衡导致能量利用率下降。当给予柴归颗粒干预后,乳酸水平将会有所下降。结果表明,柴归颗粒发挥抗抑郁

作用可能是通过改善机体能量代谢来实现的。

甲胺属于胆碱代谢产物,其主要功能是调节脂质代谢及葡萄糖平衡。胆碱是细胞膜磷脂的重要组成部分,它能够维护细胞的健康和稳定。其中,肠道菌群在胆碱代谢中起着关键作用<sup>[32]</sup>。本实验CUMS大鼠尿液中甲胺含量增加可能表明其胆碱含量升高,氧化效应增强,进而诱发抑郁症状。

丁酸是一种短链脂肪酸,是由结肠细菌发酵膳食纤维产生的肠上皮细胞主要营养物质。研究显示,丁酸可以有效地发挥抗焦虑和抗抑郁作用,它可以通过调节神经系统、免疫系统和内分泌系统提升认知能力和记忆力<sup>[33]</sup>。本实验中CUMS大鼠尿液中丁酸水平显著降低,可能与肠道微环境改变导致产丁酸菌减少有关。柴归颗粒可以回调丁酸水平,表明其可以改善肠道菌群紊乱,缓解抑郁症状。

本研究结果发现在抑郁症的发生发展过程中,机体内的代谢物处于动态变化之中。针对单一时间的研究很难反映疾病发生发展中不同时间对机体代谢的动态影响。本研究基于<sup>1</sup>H-NMR代谢组学技术对柴归颗粒干预的CUMS大鼠尿液中的10种尿液代谢标志物进行了动态分析。同时,结合MetPA通路和KEGG基因靶点富集通路,发现丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢可能是柴归颗粒抗抑郁作用的关键途径,且其途径上的GPT、GLUD1、GLUD2、GOT2等4个靶点可能是柴归颗粒治疗抑郁症的潜在靶点。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Yang W S, Yin H, Wang Y C, et al. New insights into effects of Kaixin Powder on depression via lipid metabolism related adiponectin signaling pathway [J]. Chin Herb Med, 2023, 15(2): 240-250.
- [2] Todorović Vukotić N, Đorđević J, Pejić S, et al. Antidepressants- and antipsychotics-induced hepatotoxicity [J]. Arch Toxicol, 2021, 95(3): 767-789.
- [3] Shorey S, Ng E D, Wong C H J. Global prevalence of depression and elevated depressive symptoms among adolescents: A systematic review and meta-analysis [J]. Br J Clin Psychol, 2022, 61(2): 287-305.
- [4] Nicholson J K, Lindon J C, Holmes E. 'Metabonomics': Understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data [J]. Xenobiotica, 1999, 29(11): 1181-1189.
- [5] Junot C, Pinu F R, van der Hooft J J J, et al. Editorial:

- NMR-based metabolomics [J]. *Front Mol Biosci*, 2023, 10: 1337566.
- [6] McKay R T. Metabolomics and NMR [J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2023, 277: 73-116.
- [7] Sun J, Chen X Y, Wang Y R, et al. Neuroprotective effects of Longxue Tongluo Capsule on ischemic stroke rats revealed by LC-MS/MS-based metabolomics approach [J]. *Chin Herb Med*, 2023, 15(3): 430-438.
- [8] Wang D, Zhu J, Li N, et al. GC-MS-based untargeted metabolic profiling of malignant mesothelioma plasma [J]. *Peer J*, 2023, 11: e15302.
- [9] Jin W F, Bi J L, Xu S, et al. Metabolic regulation mechanism of *Aconiti Radix Cocta* extract in rats based on <sup>1</sup>H-NMR metabonomics [J]. *Chin Herb Med*, 2022, 14(4): 602-611.
- [10] Xu J L, Zhang P Y, Huang Y, et al. Multimodal single-cell/nucleus RNA sequencing data analysis uncovers molecular networks between disease-associated microglia and astrocytes with implications for drug repurposing in Alzheimer's disease [J]. *Genome Res*, 2021, 31(10): 1900-1912.
- [11] 赵玉娇. 柴归颗粒制剂成型工艺与质量标准研究 [D]. 太原: 山西大学, 2018.  
Zhao Y J. Study on molding technology and quality standard of Chaigui Granule preparation [D]. Taiyuan: Shanxi University, 2018.
- [12] 宫文龙. 柴归颗粒中柴胡皂苷含量测定方法修订及影响成分含量与转化的因素研究 [D]. 太原: 山西大学, 2021.  
Gong W L. Revision of the determination method of saikosaponin in Chaigui Granules and study on the factors affecting the content and transformation of components [D]. Taiyuan: Shanxi University, 2021.
- [13] Willner P, Towell A, Sampson D, et al. Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant [J]. *Psychopharmacology*, 1987, 93(3): 358-364.
- [14] 许腾, 张潇, 高耀, 等. 柴归颗粒对抑郁症状伴发症状的改善作用研究 [J]. *中草药*, 2019, 50(16): 3846-3851.  
Xu T, Zhang X, Gao Y, et al. Study on antidepressant effect of Chaigui Granules on symptoms associated with depression [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2019, 50(16): 3846-3851.
- [15] 王力文, 黄德华, 田俊生, 等. 基于外周血单个核细胞转录组学的柴归颗粒抗抑郁作用机制研究 [J]. *中草药*, 2022, 53(7): 2031-2043.  
Wang L W, Huang D H, Tian J S, et al. Antidepressant mechanism of Chaigui Granules based on transcriptomics of peripheral blood mononuclear cells [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2022, 53(7): 2031-2043.
- [16] 杨欢, 杨卓, 史正刚. 单胺类和氨基酸类神经递质在抽动秽语综合征中的作用研究进展 [J]. *神经解剖学杂志*, 2021, 37(6): 726-730.  
Yang H, Yang Z, Shi Z G, et al. Research progress on the role of monoamine and amino acid neurotransmitters in tourette's syndrome [J]. *Neuroanatomy Mag*, 2021, 37(6): 726-730.
- [17] 曹琳玉, 丁虹琬, 姚开云, 等. *N*-乙酰天冬氨酸在中枢神经系统中的研究进展 [J]. *药理学学报*, 2020, 55(8): 1754-1761.  
Cao L Y, Ding H W, Yao K Y, et al. Progress in research of *N*-acetylaspartate in central nervous system [J]. *Acta Pharm Sin*, 2020, 55(8): 1754-1761.
- [18] 冯洁, 李梦文, 韦倩, 等. 半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-1活化在胆红素神经毒性中的作用研究 [J]. *第三军医大学学报*, 2017, 39(18): 1796-1802.  
Feng J, Li M W, Wei Q, et al. Role of caspase-1 activation in bilirubin neurotoxicity *in vivo* and *in vitro* [J]. *J Third Mil Med Univ*, 2017, 39(18): 1796-1802.
- [19] 刘洋, 李萍, 杨蕙, 等. 左归降糖解郁方改善糖尿病并发抑郁症大鼠 *N*-甲基-*D*-天冬氨酸受体过激致海马突触损伤的作用机制 [J]. *中草药*, 2023, 54(19): 6323-6335.  
Liu Y, Li P, Yang H, et al. The Mechanism of Zuogui Jiangtang Jieyu Recipe in ameliorating the damage of hippocampal synapse induced by hyperactivity of *N*-Methyl-*D*-Aspartic acid receptor in diabetic rats with depression [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2023, 54(19): 6323-6335.
- [20] Bonaldo P, Sandri M. Cellular and molecular mechanisms of muscle atrophy [J]. *Dis Model Mech*, 2013, 6(1): 25-39.
- [21] Cai X, Yuan Y, Liao Z, et al.  $\alpha$ -Ketoglutarate prevents skeletal muscle protein degradation and muscle atrophy through PHD3/ADRB2 pathway [J]. *FASEB J*, 2018, 32(1): 488-499.
- [22] Zhang Y, Yang H, Zhao J, et al. Activation of MAT2A-RIP1 signaling axis reprograms monocytes in gastric cancer [J]. *J Immunother Cancer*, 2021, 9(2): e001364.
- [23] 陈悠, 崔丹桂. *S*-腺苷蛋氨酸应用于慢性乙型肝炎合并抑郁患者的效果 [J]. *国际精神病学杂志*, 2022, 49(2): 331-334.  
Chen Y, Cui D G. Effect of *S*-Adenosylmethionine on depression in patients with chronic hepatitis B [J]. *Int J Psych*, 2022, 49(2): 331-334.
- [24] Ullah H, Di Minno A, Esposito C, et al. Efficacy of a food supplement based on *S*-adenosyl methionine and probiotic strains in subjects with subthreshold depression

- and mild-to-moderate depression: A monocentric, randomized, cross-over, double-blind, placebo-controlled clinical trial [J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 156: 113930.
- [25] 黄梦杰. 马尿酸毒素对慢性肾脏病血管内皮损伤的作用及分子机制研究 [D]. 北京: 中国人民解放军医学院, 2019. Huang M J. Effects and molecular mechanisms of equine chronic kidney disease on vascular endothelial damage [D]. Beijing: People's Liberation Army School of Medicine, 2019.
- [26] 王利叶, 李公春, 刘亚军, 等. 马尿酸的合成 [J]. *化学工程师*, 2014, 28(10): 67-68. Wang L Y, Li G C, Liu Y J, et al. Synthesis of hyppurate [J]. *Chem Eng*, 2014, 28(10): 67-68.
- [27] 袁静. 基于肠脑轴研究牛磺酸的抗抑郁作用机制 [D]. 保定: 河北农业大学, 2021. Yuan J. Study on antidepressant mechanism of taurine based on gut-brain axis [D]. Baoding: Agricultural University of Hebei, 2021.
- [28] Song Y, Cho J H, Kim H, et al. Association between taurine level in the hippocampus and major depressive disorder in young women: A proton magnetic resonance spectroscopy study at 7T [J]. *Biol Psy*, 2024, 95(5): 465-472.
- [29] Pathak S S, Maitra S, Chakravarty S, et al. Histone lysine demethylases of JMJD2 or KDM4 family are important epigenetic regulators in reward circuitry in the etiopathology of depression [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2017, 42(4): 854-863.
- [30] Freese R, Aarsland T E, Bjorkevoll M. Pantothenic Acid- a scoping review for nordic nutrition recommendations 2023 [J]. *Food Nutr Res*, 2023, 13: 67.
- [31] Cai Y H, Guo H Y, Han T L, et al. Lactate: a prospective target for therapeutic intervention in psychiatric disease [J]. *Neural Regen Res*, 2024, 19(7): 1473-1479.
- [32] Ortege M A, Alvarez-mon M A, Garcia-montero C, et al. Gut microbiota metabolites in major depressive disorder- deep insights into their pathophysiological role and potential translational applications [J]. *Metabolites*, 2022, 12(1): 50.
- [33] Socala K, Doboszewska U, Szopa A, et al. The role of microbiota-gut-brain axis in neuropsychiatric and neurological disorders [J]. *Pharmacol Res*, 2021, 172: 105840.

[责任编辑 兰新新]