

## 基于核磁共振氢谱筛选隐性梅毒患者血清代谢组学生物标志物的研究

王欣俞<sup>a</sup>, 赵晋文<sup>a</sup>, 蔡立文<sup>a</sup>, 王鑫琪<sup>a</sup>, 蔡礼梅<sup>b</sup> (河北燕达医院 a. 检验科; b. 消化内科, 河北廊坊 066251)

**摘要:**目的 基于核磁共振氢谱 (proton nuclear magnetic resonance spectroscopy,  $^1\text{H}$  NMR) 筛选隐性梅毒患者血清中的特征代谢产物, 从血清代谢组学角度探索隐性梅毒对机体代谢的影响及其可能的机制。方法 取2018年12月~2020年6月在河北燕达医院就诊的24例隐性梅毒患者、24例健康对照者血清样本, 应用 $^1\text{H}$  NMR分析技术进行非靶向代谢组学分析, 将两组共计48个血清样本的代谢物浓度数据集, 并转换为标准格式上传到Metaboanalyst 4.0统计分析平台, 通过贝叶斯核磁信号在线处理系统进行特征代谢产物受试者工作特征曲线 (receiver operating characteristic curve, ROC) 分析, 根据化合物匹配得分 (score  $\geq 6$ ) 确定化合物种类。结果 48个样品经贝叶斯核磁信号在线处理系统分析, 根据score  $\geq 6$  归属得到43种化合物, ROC分析表明, 隐性梅毒患者组的左旋肉碱和甲醇强度平均值显著高于健康对照组 ( $1\,069 \pm 132$  vs  $483 \pm 65$ ,  $1\,778 \pm 315$  vs  $279 \pm 94$ ), 差异均有统计学意义 ( $t=3.98, 4.56$ , 均  $P < 0.0001$ ), 两个特征代谢物的ROC曲线下面积 (area under curve, AUC) 分别为0.883和0.877。结论 左旋肉碱和甲醇可作为隐性梅毒患者的潜在生物标志物, 这些发现可能为隐性梅毒相关的代谢物未来研究提供重要的信息和思路。

**关键词:** 隐性梅毒; 梅毒螺旋体; 代谢组学; 生物标志物

中图分类号: R759.1; R446; 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2021) 05-046-06

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2021.05.010

## Study on Screening of Metabolomic Biomarkers in Recessive Syphilis Patients Based on $^1\text{H}$ NMR

WANG Xin-yu<sup>a</sup>, ZHAO Jin-wen<sup>a</sup>, CAI Li-wen<sup>a</sup>, Wang Xin-qi<sup>a</sup>, CAI Li-mei<sup>b</sup>

(a. Department of Clinical Laboratory; b. Department of Gastroenterology, Hebei Yanda Hospital, Hebei Langfang 066251, China)

**Abstract: Objective** To screen the characteristic metabolites in the serum of patients with latent syphilis based on proton nuclear magnetic resonance spectroscopy ( $^1\text{H}$  NMR), and to explore the effect of latent syphilis on metabolism and its possible mechanism from the perspective of serum metabolites. **Methods** 24 patients with latent syphilis and 24 healthy controls who were treated in Hebei Yanda Hospital from December 2018 to June 2020 were selected. The non target metabolomics analysis was carried out by  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy. The concentration data set of metabolites in 48 serum samples in two groups were uploaded to Metaboanalyst 4.0 statistical analysis platform, through Bayesian nuclear magnetic signal online processing system to analyze the receiver operating characteristic (ROC) curve of metabolites, and the types of compounds according to the score of compound matching (score  $\geq 6$ ) were determined. **Results** 48 samples were analyzed by Bayesian nuclear magnetic signal online processing system. 43 compounds were obtained according to score  $\geq 6$ . ROC curve analysis showed that the concentrations of L-carnitine and methanol in the recessive syphilis group were significantly higher than those in the control group ( $1\,069 \pm 132$  vs  $483 \pm 65$ ,  $1\,778 \pm 315$  vs  $279 \pm 94$ ), the differences were statistically significant ( $t=3.98, 4.56$ , all  $P < 0.0001$ ), and area under curve (AUC) of ROC of the two characteristic metabolites was 0.883 and 0.877, respectively. **Conclusion** L-carnitine and methanol can be used as potential biomarkers in patients with latent syphilis. These findings may provide important information and ideas for the future study of metabolites related to latent syphilis.

**Keywords:** latent syphilis; treponema pallidum; metabolomics; biomarkers

在我国传染病防治体系中将梅毒归为乙类传染病种进行防治管理。梅毒可通过性途径、血液途径及母婴途径等进行传播, 是流行病学关注的

重要传染病之一, 已成为全球范围内关注的公共卫生问题<sup>[1-2]</sup>。梅毒螺旋体 (*treponema pallidum*, Tp) 经过漫长的进化, 高度适应人体内寄生, 随

基金项目: 河北省卫生青年科技课题项目 (20180899)。

作者简介: 王欣俞 (1983-), 女, 在读硕士, 副主任技师, 研究方向: 感染与免疫学检验, E-mail: 532161952@qq.com。

通讯作者: 蔡礼梅, 女, 本科, 研究方向: 生物统计, E-mail: cml1106@163.com。

着 Tp 全基因组测序的完成, Tp 总基因组大小为 1.14 Mb, 预测开放阅读框架共 1 041 个。Tp 因其公认的早期传播及强大的免疫逃逸能力被称为“隐形病原体”, 梅毒感染机制十分复杂, 涉及新陈代谢、结构、基因的表达及调控等各个方面<sup>[3]</sup>。隐性梅毒通常没有明显的临床症状, 但仍然具有传染性, 因其疾病的隐蔽性, 发病率增速较快<sup>[4-6]</sup>。与健康人相比, 隐性梅毒患者血液中白细胞介素-6 的浓度显著增加, 而白细胞介素-10 的浓度则有显著降低<sup>[7]</sup>。梅毒的早期诊断和治疗对改善阳性患者的健康至关重要, 如果不及及时进行干预和治疗, 会引起非常严重的并发症<sup>[8-9]</sup>。

隐性梅毒患者对感染的不知情, 是遏制梅毒流行传播的主要威胁。目前, 代谢组学分析已广泛应用于病原体相关疾病的研究, 有学者通过超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱法从神经梅毒患者脑脊液中鉴定出了 D-甘露糖、L-古洛糖- $\gamma$ -内酯、次黄嘌呤和 N-乙酰基-L-酪氨酸等特征代谢产物, 该发现可能有助于神经梅毒的诊断和治疗评估<sup>[10]</sup>。代谢组学研究的两大主要工具是核磁共振波谱技术 (nuclear magnetic resonance, NMR) 和质谱, 通过现代分析技术手段研究机体在不同生理病理状态下代谢物质的种类、数目变化及相互作用, 对代谢产物进行全面的分析<sup>[11]</sup>。综上, 本研究采用 <sup>1</sup>H NMR 分析技术对隐性梅毒患者血清代谢组学进行研究, 寻找特征代谢产物, 以期改善隐性梅毒的综合诊治提供新的思路。

## 1 材料与方法

1.1 研究对象 选取 2018 年 12 月 ~ 2020 年 6 月在河北燕达医院就诊的 24 例隐性梅毒患者、24 例健康对照者血清样本, 获得我院伦理委员会批准, 批准文号 20180601。隐性梅毒诊断参照中华人民共和国卫生行业标准《梅毒诊断 WS273-2018》<sup>[12]</sup>。

纳入标准: ①有流行病学史; ②化学发光分析法 (chemiluminescence analysis, CLIA) 阳性; ③快速血浆反应素环状卡片试验 (rapid serum reagin test, RPR) 阳性; ④梅毒螺旋体免疫印迹方法 (treponema pallidum western blot test, TP-WB) 确证阳性; ⑤无任何梅毒性的临床表现、无代谢性疾病的患者。

排除标准: ① CLIA 阴性; ② RPR 阴性; ③无代谢性疾病。

将血液样本进行 <sup>1</sup>H NMR 的预处理, 两组的年龄和性别相匹配, 消除年龄、性别差异。

1.2 试剂与仪器 氘水 (99.8%, CAS 7789-20-0, 美国 Aldrich 公司), 无水磷酸氢二钠 (98%, CAS 7558-79-4, 上海康郎生物科技有限公司), 1,1,2,2,3,3-

六氘-3-三甲基甲硅烷基丙烷-1-磺酸钠 (98%, CAS 2039-96-5, 上海吉至生化科技有限公司); 布鲁克 AVANCE III 500M NMR 光谱仪; NMR 样品管的直径为 5 mm, 带 J Young 阀; 梅特勒-托利多 ME204E/02 电子天平, 可调移液器 (量程为 100 ~ 1 000  $\mu$ l, 德国 Eppendorf 公司), 计量检定合格并在有效期内使用; 试剂配置及稀释用水均为二重蒸馏水。

1.3 方法 使用无添加剂 5 ml 真空采血管血液样本采集, 4  $^{\circ}$ C 条件下, 3 000 r/min 离心 15 min, 取血清转置入冻存管中, 于 -80  $^{\circ}$ C 超低温冰箱保存待用。样品核磁检测预处理血清样品中蛋白质的过滤, 采用超滤膜 Amicon Ultra-0.5 3000 MWCO 过滤去除。过滤完成后, 将 570  $\mu$ l 样品放入薄壁 5mm NMR 管中, 调节其 pH 值在 6.8 ~ 7.4。样品标准化处理流程为取血清 570  $\mu$ l, 加入氘水 70  $\mu$ l, 缓冲液 60  $\mu$ l (缓冲液配置: 取 7.850 g 无水磷酸氢二钠, 0.230g 氘水, 溶于 100ml 去离子水中), 最终核磁谱上机测试样体积为 700  $\mu$ l。然后通过 AVANCE III Ascend 500 HD Bruker NMR 光谱仪采集其 CPMG 压水峰核磁信号 (谱宽 10 kHz, 采样点数 32 000, 累加次数 128 次, 弛豫延迟时间 3s。自由回波时间 100 ms), 以 TSP 为化学位移校准, 化学内标浓度 500  $\mu$ mol, 核磁频率 500 MHz, 上传谱图格式 ZIP 压缩的 FID 文件 (Bruker), 速度模式为快速模式。由贝叶斯核磁信号在线处理系统对血清代谢物进行鉴定和定量 (包括傅立叶变换、化学位移校正、基线校正等步骤)<sup>[11]</sup>。

1.4 统计学分析 <sup>1</sup>H NMR 得到样品中代谢物浓度数据集, 将 48 个血清样品的代谢物浓度数据转换为 CSV 格式上传到 Metaboanalyst 4.0 统计分析平台<sup>[13]</sup>, 通过生物标志物分析模块 (biomarker analysis module) 进行特征代谢产物受试者工作特征曲线 (receiver operating characteristic curve, ROC) 分析, 应用 Graphpad Prism 5.0 软件进行组间差异代谢产物分析。符合正态分布和方差齐性的计量资料用均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 两组间的比较采用独立样本 *t* 检验。 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 血清原始核磁谱图及其化合物归属 见表 1、图 1、图 2。通过贝叶斯核磁信号在线处理系统进行分析, 48 个血清样品归属得到 43 种化合物浓度矩阵。代谢物种类包括枸橼酸、琥珀酸、乳酸、异丁酸、富马酸和乙酸等有机酸类, 以及甘氨酸、赖氨酸、亮氨酸、丙氨酸和精氨酸等氨基酸类等。

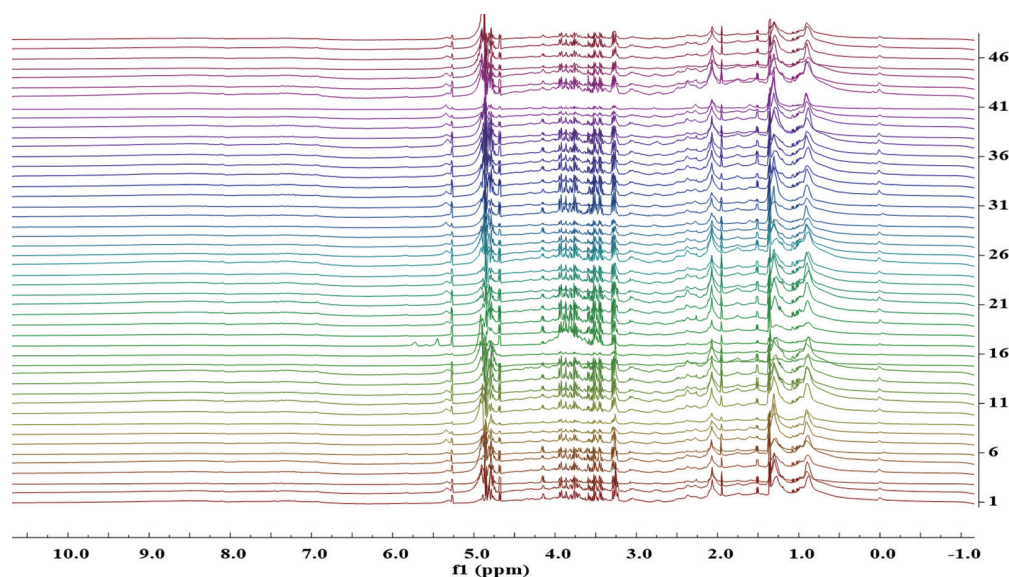
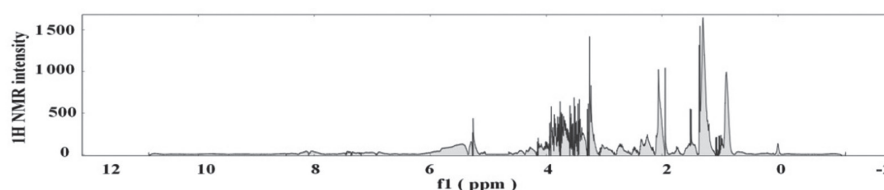
图1 所有48个血清样品的原始<sup>1</sup>H NMR谱图图2 经Bayesil核磁信号处理的代表性血清样本<sup>1</sup>H NMR光谱图(48个样品之一)

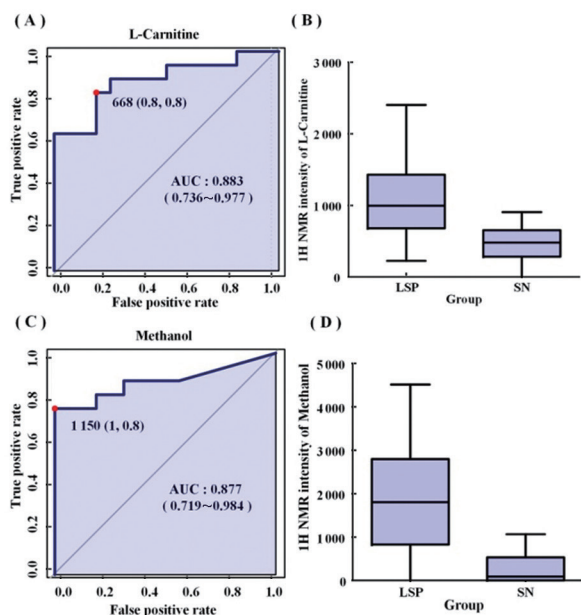
表1

血清核磁图谱中归属得到的化合物

HMDB ID	化合物名称	得分	HMDB ID	化合物名称	得分
HMDB00214	Ornithine	6	HMDB00122	D-Glucose	10
HMDB00517	L-Arginine	6	HMDB00123	Glycine	10
HMDB00064	Creatine	7	HMDB00148	L-Glutamic acid	10
HMDB00172	L-Isoleucine	7	HMDB00157	Hypoxanthine	10
HMDB00177	L-Histidine	7	HMDB00158	L-Tyrosine	10
HMDB00691	Malonic acid	7	HMDB00159	L-Phenylalanine	10
HMDB00060	Acetoacetate	8	HMDB00161	L-Alanine	10
HMDB00243	Pyruvic acid	8	HMDB00162	L-Proline	10
HMDB00254	Succinic acid	8	HMDB00190	L-Lactic acid	10
HMDB00294	Urea	8	HMDB00357	3-Hydroxybutyric acid	10
HMDB00008	2-Hydroxybutyrate	9	HMDB00562	Creatinine	10
HMDB00062	L-Carnitine	9	HMDB00641	L-Glutamine	10
HMDB00108	Ethanol	9	HMDB00687	L-Leucine	10
HMDB00131	Glycerol	9	HMDB00696	L-Methionine	10
HMDB00142	Formic acid	9	HMDB00863	Isopropanol	10
HMDB00167	L-Threonine	9	HMDB00883	L-Valine	10
HMDB00182	Lysine	9	HMDB01659	Acetone	10
HMDB00191	L-Aspartic acid	9	HMDB01873	Isobutyric acid	10
HMDB00042	Acetic acid	10	HMDB01875	Methanol	10
HMDB00043	Betaine	10	HMDB01881	Propylene glycol	10
HMDB00094	Citric acid	10	HMDB04983	Dimethylsulfone	10
HMDB00097	Choline	10			



2.2 隐性梅毒患者特征代谢产物分析 隐性梅毒患者与健康对照血清中甲醇及左旋肉碱 ROC 曲线分析显示,两个特征代谢物的 AUC 分别为 0.883 和 0.877 (见图 3A, 3C)。隐性梅毒患者组的左旋肉碱  $^1\text{H}$  NMR 强度平均值为  $1\,069 \pm 132$ , 健康对照组左旋肉碱  $^1\text{H}$  NMR 强度平均值为  $483 \pm 65$ , 两组比较差异有统计学意义 ( $t=3.98$ ,  $P < 0.001$ ), 见图 3B。隐性梅毒患者组的甲醇浓度  $^1\text{H}$  NMR 强度平均值为  $1\,778 \pm 315$ , 健康对照组甲醇浓度  $^1\text{H}$  NMR 强度平均值为  $279 \pm 94$ , 两组比较差异有统计学意义 ( $t=4.56$ ,  $P < 0.0001$ ), 见图 3D。



A. 血清中 L-Carnitine 浓度 ROC 曲线分析; B. LSP 和 SN 两组 L-Carnitine 浓度差异比较; C. 血清中 Methanol 浓度 ROC 曲线分析; D. LSP 和 SN 两组 Methanol 浓度差异比较; L-Carnitine: 左旋肉碱; Methanol: 甲醇。

图 3 基于 ROC 曲线分析和 T 统计量的 LSP 和 SN 组的两个特征代谢物

### 3 讨论

近年我国梅毒流行上升趋势已得到有效遏制,但梅毒诊治仍存在问题有待解决,如梅毒螺旋体检测不能人工培养,部分方法特异度不高,梅毒的致病机制仍是临床研究的难点。梅毒常用的检测方法主要分为两类:一类是病原学检测,另一类是血清学检测。临床上梅毒的诊断主要依赖血清学试验,然而,血清学检测的假阴性或生物假阳性结果以及试验方法的局限性可能会阻碍梅毒的及时诊断和治疗<sup>[14-15]</sup>。科学家仍在寻找更敏感和更具体的梅毒诊断标志物。代谢组学是继基因组学和蛋白质组学之后发展起来的一门新兴学科,可对生物体内的所有代谢物特别是小分子代谢物进行定性、定量分析<sup>[16-18]</sup>。NMR 技术优点是对样本检测无偏向性,

非破坏性,预处理操作简单,具有较高的通量,灵敏度、特异度和分辨率强,成为临床基础研究新的热点,可为生理学、能力代谢、疾病诊断标志物、疾病的干预等提供大量的信息。 $^1\text{H}$ -NMR 作为代谢组学研究的重要手段已广泛应用于不同类型疾病差异代谢物的研究<sup>[19-21]</sup>。

左旋肉碱是一种广泛存在于生物体的水溶性季铵类化合物,促使脂肪转化为能量的类氨基酸主要参与体内能量代谢,特别是脂类代谢。具有促进脂肪酸氧化、促进支链氨基酸代谢及调节线粒体内酰基比率等功能<sup>[22-24]</sup>。先天性甲醇的增加可能在分子水平上解释视觉障碍的发展,视觉障碍表现为视网膜梅毒和眼梅毒引起的急性后部多灶性鳞状色素上皮病<sup>[25]</sup>。推测,隐性梅毒患者血清中两种特征代谢标志物可能与其能量代谢变化及视神经损伤发生发展存在密切关系。此外,关于神经梅毒患者脑脊液代谢分子的研究也发现系列特征生物标志物,这些生物标志物的发现对改进检测诊断及研究患者机体代谢变化特征和治疗评估具有潜在应用价值<sup>[26-27]</sup>。本研究 ROC 曲线分析表明,隐性梅毒患者组的左旋肉碱和甲醇强度平均值显著高于健康对照组 (均  $P < 0.0001$ ),两个特征代谢物的 AUC 分别为 0.883 和 0.877。说明左旋肉碱和甲醇可作为隐性梅毒患者的潜在生物代谢标志物。由于尚未有文献对隐性梅毒患者血清代谢物进行系统研究,因此,左旋肉碱和甲醇在隐性梅毒中的作用机制仍然未知。综上所述,左旋肉碱和甲醇可作为隐性梅毒患者的潜在生物标志物,这些发现可能为隐性梅毒相关代谢物未来研究提供重要的信息和思路。本研究的局限性为样本量较小,需要扩大样本量进行进一步研究验证。本研究结果为梅毒的早期发现和诊治提供了参考,以减少梅毒感染的持续时间并防止继续传播。

### 参考文献:

- [1] FORRESTEL A K, KOVARIK C L, KATZ K A. Sexually acquired syphilis: laboratory diagnosis, management, and prevention[J]. Journal of the American Academy of Dermatology, 2020, 82(1): 17-28.
- [2] MARRONE R, BAGLIO G, BRUSCINO G, et al. Prevalence of latent tuberculosis infection, hepatitis B, hepatitis C, and syphilis among newly arrived unaccompanied minors living in reception centers in Rome[J]. International Journal of Infectious Diseases, 2020, 101(3): 126-130.
- [3] 汤兰桂, 江晗, 张晓红, 等. 梅毒螺旋体慢性持续性感染相关机制研究进展 [J]. 中国现代医药杂志, 2020, 22(6): 100-103.

TANG Langui, JIANG Han, ZHANG Xiaohong, et al. Research progress on mechanism of chronic persistent infection of *Treponema pallidum* [J]. Modern Medicine Journal of China, 2020, 22(6): 100-103.

- [4] 马璐,周健,余敏,等.2009-2018年贵阳市隐性梅毒流行特征分析[J].应用预防医学,2020,26(5):435-437. MA Lu, ZHOU Jian, SHE Min, et al. Epidemiological characteristics of latent syphilis in Guiyang, 2009-2018 [J]. Applied Preventive Medicine, 2020, 26(5): 435-437.
- [5] 李世慎,陈怀忠,陈娜娜,等.120例隐性梅毒流行病学特征分析[J].皮肤病与性病,2020,42(4):510-512. LI Shishen, CHEN Huaizhong, CHEN Nana, et al. Epidemiological characteristics of 120 cases of latent syphilis [J]. Journal of Dermatology and Venereology, 2020, 42(4): 510-512.
- [6] 蒋丽君,覃桂玲,李哲,等.影响桂北地区隐性梅毒患者生活质量的多因素分析[J].中国皮肤性病学杂志,2019,33(6):684-687. JIANG Lijun, QIN Guiling, LI Zhe, et al. Multi-factor analysis of quality of life affecting patients with recessive syphilis in northern Guangxi [J]. The Chinese Journal of Dermatovenereology, 2019, 33(6): 684-687.
- [7] ZAKHAROV S V. Cytokine profile in patients with early latent syphilis [J]. Medični Perspektivi, 2018, 23(1): 71-75.
- [8] Gottesman S P, Schoenling Y S, Culpepper K S. Late latent mucinous syphilis mimicking connective tissue disease [J]. Journal of Cutaneous Pathology, 2017, 44(6): 578-581.
- [9] DHANASELVI H, KALAIIVANI S. Untreated late latent syphilis of both spouses with observation of Kassowitz Law: Adverse pregnancy outcomes in the postpenicillin Era [J]. Indian Journal of Dermatology, 2017, 62(2): 221-222.
- [10] LIU LiLi, LIN Yong, CHEN Wei, et al. Metabolite profiles of the cerebrospinal fluid in neurosyphilis patients determined by untargeted metabolomics analysis [J]. Frontiers in Neuroscience, 2019, 13: 150.
- [11] 曹东敏,关琴笑,刘雅莉,等.基于<sup>1</sup>H-NMR的人参皂苷治疗缺血性脑中风的血清代谢组学研究[J].中国中药杂志,2020,45(5):1142-1148. CAO Dongmin, GUAN Qinxiao, LIU Yali, et al. Effect of ginsenosides on serum metabolomic profiles in cerebral ischemia-reperfusion rats based on <sup>1</sup>H-NMR [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2020, 45(5): 1142-1148.
- [12] 中华人民共和国国家卫生健康委员会.WS 273-2018:梅毒诊断[S].北京:中国标准出版社,2018. National Health Commission of the People's Republic of China. WS 273-2018: Diagnosis for syphilis [S]. Beijing: China Standard Press, 2018.
- [13] CHONG J, WISHART D S, XIA Jianguo. Using metaboanalyst 4.0 for comprehensive and integrative metabolomics data analysis [J]. Current Protocols in Bioinformatics, 2019, 68(1): e86.
- [14] RUNINA A V, SHPILEVAYA M V, KATUNIN G L, et al. Differential serodiagnostics of latent stages of syphilis based on measuring IgG and IgM levels towards extended panel of recombinant antigens of *T. pallidum* [J]. Bulletin of Experimental Biology and Medicine, 2020, 169(4): 04911-9.
- [15] CAMEN P R C, JAMES M J, HAMILTON J, et al. Rapid diagnostic test for antenatal syphilis screening in low-income and middle-income countries: A systematic review and meta-analysis [J]. BMJ Open, 2018, 8(2): e018132.
- [16] 魏莹,万传玲,薛蓉,等.基于<sup>1</sup>H-NMR给药赭石后大鼠尿液的代谢组学分析[J].分析化学,2016,44(6):857-863. WEI Ying, WAN Chuanling, XUE Rong, et al. <sup>1</sup>H NMR based metabolic study of urine from haematium-treated rats [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2016, 44(6): 857-863.
- [17] 林丽丽,汪受传,杨燕,等.基于代谢组学方法的小儿肺炎易感性研究[J].分析化学,2018,46(2):188-194,后插1-后插4. LIN Lili, WANG Shouchuan, YANG Yan, et al. Metabolomics study on susceptibility of pneumonia in children [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2018, 46(2): 188-194, insert1-insert4.
- [18] BERNACCHIONI C, GHINI V, CENCETTI F, et al. NMR metabolomics highlights sphingosine kinase-1 as a new molecular switch in the orchestration of aberrant metabolic phenotype in cancer cells [J]. Molecular Oncology, 2017, 11(5): 517-533.
- [19] 徐海娥,李潘,张慧,等.基于H-NMR技术的甲状腺乳头状癌血清代谢组学研究[J].中国肿瘤外科杂志,2020,12(5):438-442. XU Haie, LI Pan, ZHANG Hui, et al. Study of serum metabolomics on papillary thyroid carcinoma based on H-NMR technology [J]. Chinese Journal of Surgical Oncology, 2020, 12(5): 438-442.
- [20] 邵晓妮,吴美薇,黑亚南,等.慢性高尿酸血症肾病模型大鼠尿液和肾脏的代谢组学研究[J].中国药理学通报,2020,36(11):1607-1614. SHAO Xiaoni, WU Meiwei, HEI Yanan, et al. Metabolomic analysis of urine and tissues in rats with chronic hyperuricemic nephropathy [J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2020, 36(11): 1607-1614.
- [21] 李永彪,吴兰兰,樊玉青,等.蜘蛛香环烯醚萜部位干预CUMS致抑郁小鼠脑组织的<sup>1</sup>H-NMR代谢组学分析[J].中国实验方剂学杂志,2020,26(19):195-203. LI Yongbiao, WU Lanlan, FAN Yuqing, et al. <sup>1</sup>H-NMR metabolomic analysis of brain tissue of cums-induced depressed mice intervened by iridoid part of valerianae jatamansi rhizoma et radix [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2020, 26(19): 195-203.
- [22] 梁婕,凌敏,张薇,等.葛根提取物对小鼠酒精性肝损伤的辅助保护效果[J].江苏预防医学,2020,31(3):280-282. LIANG Jie, LING Min, ZHANG Wei, et al. Protective effect of pueraria extract on alcoholic liver injury [J]. Jiangsu Journal of Preventive Medicine, 2020, 31(3): 280-282.
- [23] 高泽岳,张雨桐,王璐,等.左旋肉碱在食品检测中的研究新进展[J].吉林农业,2019,5(1):83. GAO Zeyue, ZHANG Yutong, WANG Lu, et al. New progress in the research of L-carnitine in food detection [J]. Agriculture of Jilin, 2019, 5(1): 83.