李欣悦, 张忠山, 赵猛, 等. 西红花瓣多糖对 D-半乳糖诱导衰老小鼠脑组织的影响 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(8): 437−448. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025040016
LI Xinyue, ZHANG Zhongshan, ZHAO Meng, et al. Effects of Saffron Polysaccharides on Brain Metabolites in D-Galactose-induced Aging in Mice[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(8): 437−448. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025040016

·营养与保健·

西红花瓣多糖对 D-半乳糖诱导衰老小鼠脑组织的影响

李欣悦[1], 张忠山[1,*], 赵　猛[1], 李丽琴[2], 姚　冲[2], 史星雲[3], 王晓梅[1,*]
（1.湖州师范大学生命科学学院, 浙江湖州 313000;
2.湖州市中心医院, 浙江湖州 313000;
3.湖州市农业科学研究院, 浙江湖州 313000）

摘　要: 为探究西红花瓣多糖对 D-半乳糖诱导衰老小鼠脑组织的保护作用及潜在机制，将 KM 小鼠随机分为正常对照组、模型组、阳性对照组，西红花瓣多糖低、中、高剂量组（100、200、400 mg/kg/d），每组 10 只，建模给药同时进行 8 周。实验结束后分析小鼠体重及器官指数，尼氏体染色检测海马组织变化，比较脑组织乙酰胆碱酯酶（AChE）和总一氧化氮合酶（T-NOS）指标的变化，Western blot 检测 P53 蛋白（P53）、B-淋巴细胞-2 相关 X 蛋白（Bax）和半胱氨酸蛋白酶-3（Caspase-3）的表达，并采用代谢组学分析脑组织代谢物变化。结果发现，西红花瓣多糖对小鼠体重及器官指数影响较小。与正常组比较，模型组尼氏体数量减少，AChE、T-NOS 酶活性分别显著增加了 58.22%、23.036%（P<0.01），P53、Bax、Caspase-3 蛋白表达上调了 48.41%、25.08%、37.91%（P<0.05）；与模型组相比，多糖剂量组尼氏体数量增加，AchE 活性及中高剂量组 T-NOS 活性显著降低（P<0.01），P53、Bax、Caspase-3 蛋白表达减少，尤其是西红花瓣多糖高剂量组分别显著下调了 37.88%、37.12%、30.02%（P<0.05）。代谢通路分析发现，西红花瓣多糖主要影响精氨酸合成、谷胱甘肽代谢等通路。综上所述，西红花瓣多糖能够有效缓解 D-半乳糖诱导的小鼠脑组织损伤，其机制可能与调节 P53、Bax、Caspase-3 蛋白表达，影响精氨酸合成和谷胱甘肽代谢等通路有关，研究结果可为扩展西红花瓣资源在抗衰老领域中的应用提供理论依据。

关键词: 西红花瓣, 多糖, 抗衰老, 脑代谢组
中图分类号: TS201.4　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)08−0437−12
DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025040016
本文网刊:

Effects of Saffron Polysaccharides on Brain Metabolites in D-Galactose-induced Aging in Mice

LI Xinyue[1], ZHANG Zhongshan[1,*], ZHAO Meng[1], LI Liqin[2], YAO Chong[2], SHI Xingyun[3], WANG Xiaomei[1,*]
（1.College of Life Sciences, Huzhou Normal University, Huzhou 313000, China;
2.Huzhou Central Hospital, Huzhou 313000, China;
3.Huzhou Academy of Agricultural Sciences, Huzhou 313000, China）

Abstract: To investigate the protective effects and potential mechanisms of safflower petal polysaccharides on D-galactose-induced brain tissue damage in aging mice, KM mice were randomly divided into a normal control group, a model group, a positive control group, and low-, medium-, and high-dose safflower petal polysaccharide groups (100, 200 and

收稿日期: 2025−04−03
基金项目: 湖州市科技计划项目（2023YZ57）; 浙江省免疫调节中药开发与临床转化中医药重点实验室开放基金（TCM202401）; 浙江省中医药科技计划项目（2023ZF048）; 湖州师范学院研究生科研创新项目（2025KYCX87）。
作者简介: 李欣悦（2001−）, 女, 硕士研究生, 研究方向: 食药同源资源开发利用, E-mail: 2820292665@qq.com。
*** 通信作者:** 张忠山（1982−）, 男, 博士, 教授, 研究方向: 食药同源资源开发利用, E-mail: 01959@zjhu.edu.cn。
王晓梅（1981−）, 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食药同源资源开发利用, E-mail: 01960@zjhu.edu.cn。

400 mg/kg/d), with 10 mice in each group. Modeling and drug administration were conducted simultaneously for 8 weeks. After the experiment, body weight and organ indices were analyzed, Nissl staining was used to examine hippocampal tissue changes, and the levels of AChE and T-NOS in brain tissue were compared. Western blot was employed to detect the expression of apoptosis-related proteins, including P53, Bax, and caspase-3. Additionally, metabolomics analysis was performed to assess changes in brain tissue metabolites. The results showed that safflower petal polysaccharides had minimal effects on body weight and organ indices. Compared with the normal group, the model group exhibited a reduction in Nissl bodies, along with significant increases in AChE and T-NOS enzyme activities by 58.22% and 23.036%, respectively (P<0.01). The protein expression of P53, Bax, and Caspase-3 was upregulated by 48.41%, 25.08%, and 37.91%, respectively (P<0.05). In contrast, the polysaccharide-treated groups showed an increase in Nissl bodies, a significant decrease in AChE activity, and reduced T-NOS activity in the medium- and high-dose groups (P<0.01). The expression of P53, Bax, and Caspase-3 proteins was also downregulated, particularly in the high-dose safflower petal polysaccharide group, which exhibited significant reductions of 37.88%, 37.12% and 30.02%, respectively (P<0.05). Metabolomic pathway enrichment analysis revealed that safflower petal polysaccharides primarily regulated arginine biosynthesis and glutathione metabolism pathways. In conclusion, safflower petal polysaccharides effectively alleviated D-galactose-induced brain tissue damage in mice. The underlying mechanism may involve the modulation of P53, Bax, and Caspase-3 protein expression, as well as the regulation of arginine biosynthesis and glutathione metabolism pathways. These findings provide a theoretical basis for expanding the application of safflower petal resources in anti-aging research.

Key words: saffron; polysaccharides; anti-aging; brain metabolomics

西红花(*Crocus sativus* L.)又称藏红花,是鸢尾科番红花属的植物,是传统医学中被广泛使用的香料和药材[1]。2019 年 11 月 25 日,国家卫生健康委和国家市场监管总局发布公告将西红花纳入按照传统既是食品又是中药材的物质目录管理,允许作为香辛料和调味品使用。西红花活性成分如西红花苷类的研究已较为深入[2−3],然而占其生物量 90% 以上的花瓣常被作为副产品丢弃。最新研究发现,西红花瓣富含结构特殊的多糖类物质,有良好的抗氧化特性,可以增强 RAW264.7 细胞的免疫活性[4],但关于西红花瓣多糖的抗衰老活性尚未有报道。

随着全球人口老龄化加剧,与衰老相关的认知功能障碍和神经退行性疾病已成为重大公共卫生问题。在衰老的过程中,大脑功能会发生变化,导致认知功能的下降甚至神经系统疾病。脑代谢组会随着衰老发生重大变化,有研究表明,中年到老年约有 60% 的脑组织代谢物发生了改变[5]。近年来,天然产物中具有生物活性的多糖成分因其独特的抗氧化、抗炎和神经保护作用受到广泛关注[6]。本研究通过颈背部注射 D-半乳糖构建小鼠衰老模型,同时用西红花瓣多糖低、中、高剂量给小鼠灌胃,基于液相色谱-质谱联用技术(LC-MS/MS)研究了多糖对小鼠脑组织代谢的影响。通过正交偏最小二乘判别分析结合代谢物变化倍数,系统比较西红花瓣多糖干预组小鼠脑内代谢物的表达差异。研究结果不仅为西红花资源的高值化利用提供理论依据,也为开发靶向脑代谢的天然抗衰老产品提供新思路。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

SPF 级 KM 雄性小鼠　60 只,体质量约 30 g,6 周龄,购自杭州启真实验动物科技有限公司,标准饲料喂养,小鼠质量检测在杭州医院完成,实验动物合格证编号:20240314Abzz0100999357,实验动物生产许可证:SCXK(浙)2022-0005,实验动物使用许可证编号为:SYXK(浙)2022-0024);西红花瓣　采自浙江寿仙谷医药股份有限公司,经浙江农林大学邢丙聪副教授鉴定为西红花(*Crocus sativus* L.)花瓣;D-半乳糖　上海源叶生物;4% 多聚甲醛固定液　北京酷来搏科技有限公司;AchE、T-NOS 试剂盒　南京建成有限公司;一步法免染 PAGE 凝胶快速制备试剂盒　上海雅酶生物医药科技有限公司;P53、Bax、Caspase-3 抗体、β-actin、羊抗小鼠/兔 IgG　艾比玛特生物医药(上海)有限公司。

TG16KR 型台式高速冷冻离心机　长沙东旺实验仪器有限公司;WH-966 型漩涡振荡器　太仓市科教器材厂;BDF-86V348 −80 ℃ 超低温冰箱　济南好来宝医疗器材有限公司;Spectra Max 190 型酶标仪　美国 MD 公司;NextSeq 500Illumina MiSeq 测序仪　美国 Illumina 公司;Waters 2777C 超高液相色谱　沃特世公司;Q Exactive HF 高分辨率质谱　赛默飞世尔科技公司。

1.2 实验方法

1.2.1　西红花瓣多糖的提取　将西红花花瓣在 50 ℃ 下烘干至恒重,粉碎后以 95% 乙醇脱脂除色素,过滤并烘干滤渣备用。根据实验室前期正交试验得到最优条件提取多糖,取预处理的粉末,加入 8% NaOH 溶液,于 90 ℃ 水浴加热 2 h,同时磁力搅拌,离心(4000 r/min, 10 min)后取上清液并迅速中和至中性。过滤后减压浓缩,经 3500 Da 透析 72 h 去除小分子杂质,浓缩液用乙醇沉淀,干燥后得到粗多糖。将粗多糖经 DEAE-52 和 S-100 柱子纯化后取其中纯化组分开展动物实验。

1.2.2　动物饲养、造模及分组　本研究选用 60 只健康 KM 品系雄性小鼠,采用完全随机分组方法将其

分为 6 组(n=10)，分别为：正常对照组(CK)、模型组(M)、阳性对照组(P)以及西红花瓣多糖低、中、高剂量组(XL、XM、XH)。SPF 环境饲养(温度：25±0.5 ℃，相对湿度：60%~70%)，饲喂标准饲料，自由取水，实验前适应一周。除 CK 组每日下午颈背部皮下注射 0.2 mL 生理盐水，其余各组小鼠每日颈背部皮下注射 D-半乳糖(150 mg/kg/d、0.2 mL)造模，同时 CK 和 M 组每日灌胃 0.3 mL 生理盐水，P 组灌胃 0.3 mL 的 V_C(200 mg/kg/d)，XL、XM、XH 组灌胃 0.3 mL 西红花瓣多糖(剂量分别为 100、200、400 mg/kg/d[7−8])，造模给药同时进行 8 周。整个实验过程中涉及动物的所有程序均经湖州师范学院实验动物伦理委员会批准。

1.2.3　组织样本的采集与处理　实验进行 8 周后处死小鼠取出小鼠脑、肝脏、肾脏、胸腺、脾脏组织，利用预冷的生理盐水清洗，滤纸吸干并称重后放入冻存管中，−80 ℃ 保存备用。分别计算小鼠肝、肾、脾、胸腺、脑的器官指数，小鼠器官指数计算公式：

$$\text{器官指数}(\%) = \text{器官重量}(g)/\text{体重}(g)\times 100$$

组织匀浆的制备：称取 50 mg 小鼠脑组织样品，放入 1.5 mL 离心管中，组织按 1∶9(w/v)加入生理盐水，加入磁珠后匀浆(10% 匀浆液)，2500×g 离心 10 min，收集上清备用。

1.2.4　脑组织尼氏体染色　取新鲜海马体，4% 多聚甲醛内固定，梯度脱水，石蜡包埋，用尼氏体染色液滴加到组织上，使其完全覆盖，于室温下避光染色 10 min，蒸馏水冲洗 1 min，放入 70% 酒精分化后用无水乙醇脱水，二甲苯透明。

1.2.5　生化指标的测定　采用试剂盒说明书提供的方法，分别测定脑组织中乙酰胆碱酯酶(AChE)和总一氧化氮合酶(T-NOS)的含量。

1.2.6　Western blot 检测小鼠脑组织蛋白表达水平　取适量脑组织匀浆，加入 RIPA 组织裂解液，在冰上裂解，用 BCA 法测定总蛋白浓度[9]，加入上样缓冲液及裂解液制成上样样品。蛋白质经 SDS-PAGE(5% 浓缩胶，10% 分离胶)分离后转膜，封闭后先后与一抗、二抗孵育，TBST 洗涤后显影，采用 Image J 进行灰度分析[10]。

1.2.7　脑组织上清液质联用(LC-MS/MS)检测　采用 Waters 2777C 超高效液相色谱(UPLC)与 Q Exactive HF 高分辨率质谱联用技术，对小鼠脑组织进行非靶向代谢组学分析。从正常对照组、模型组和西红花瓣多糖高剂量干预组中每组取 6 个样品脑组织做重复。取 50 mg 脑组织，加入 500 μL 预冷的 80% 甲醇水溶液，冰水浴匀浆 5 min 后，于 4 ℃、15000 r/min 条件下离心 20 min。取上清液用超纯水稀释至 53%(v/v)，再次离心后进样分析。质谱原始数据经 Progenesis QI 软件处理，提取保留时间、质荷比(m/z)及峰面积等信息，生成数据矩阵。通过 KEGG 数据库进行代谢物功能注释和通路富集分析。

1.3　数据处理

使用 IBM SPSS Statistics 26 进行统计分析，通过单因素 ANOVA 检验比较各组差异，设定显著性水平 $P<0.05$ 作为统计学差异的判断标准。

2　结果与分析

2.1　小鼠一般行为观察

D-半乳糖颈背部注射造模 8 周后，正常对照组小鼠显示良好的活动性、毛发光泽度和精神状态；衰老模型组小鼠行动较迟缓，精神状态不佳，倦怠喜卧，毛发、胡须暗淡无光并有所脱落，饮食量有所减少，这些行为和生理表型与文献报道的衰老小鼠模型特征一致[11]。由此看出，衰老模型建立成功。阳性对照组以及西红花瓣多糖干预组小鼠精神状态和行为趋向空白对照组。

2.2　小鼠体重变化

为了系统评估西红花瓣多糖对 D-半乳糖诱导的衰老小鼠生理状态的影响，本研究对小鼠体重变化进行了动态监测，如图 1 所示，在整个实验周期内，所有实验组的小鼠体重均呈现缓慢增长趋势，符合小鼠的正常生长发育规律。值得注意的是，虽然模型组小鼠在 D-半乳糖颈背部持续注射下出现明显衰老表征，如毛发稀疏、活动减少，但其体重增长曲线与正常对照组相比无统计学差异($P>0.05$)，与文献中报道的衰老模型小鼠体重变化趋势一致[12]，说明西红花瓣多糖对小鼠体重无影响。

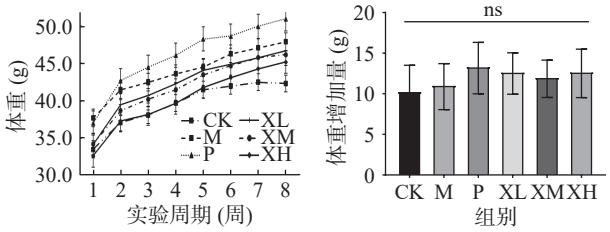


图 1　西红花瓣多糖对 D-半乳糖致衰老小鼠体重的影响

Fig.1　Effect of tomato petal polysaccharides on body weight in D-galactose-induced aging mice

注：ns 表示数据无显著性差异。

2.3　小鼠脏器指数分析

如表 1 所示，模型组胸腺指数在所有实验组中

表 1　西红花瓣多糖对小鼠脏器指数的影响

Table 1　Effect of saffron polysaccharides on organ index in mice

组别	脏器指数(%)				
	肾	肝	胸腺	脾	脑
CK	1.46±0.03	3.84±0.08	0.16±0.01	0.23±0.01	1.06±0.03
M	1.40±0.05	3.65±0.15	0.15±0.01	0.23±0.01	1.00±0.03
P	1.35±0.04	3.49±0.04	0.17±0.01	0.21±0.01	0.99±0.03
XL	1.49±0.05	3.74±0.17	0.16±0.01	0.21±0.02	1.07±0.02
XM	1.31±0.06	3.38±0.10	0.16±0.01	0.22±0.01	1.01±0.03
XH	1.31±0.04	3.40±0.04	0.17±0.01	0.23±0.02	1.04±0.02

最低，与正常对照组相比下降了 6.25%。胸腺是免疫系统的重要组成部分，随着年龄的增长，胸腺会逐渐萎缩，进而导致免疫功能下降。各组小鼠器官指数差异无统计学意义（P>0.05），即西红花瓣多糖均未使小鼠肾、肝、胸腺、脾、脑 5 种器官产生明显肿胀或萎缩，结合小鼠体重变化情况，说明西红花瓣多糖对小鼠脏器指数无显著影响，这一结果与吴洁洁等[13]在衰老模型小鼠中观察到的脏器指数无显著变化的研究结论一致。

2.4 脑组织尼氏体染色

尼氏体（Nissl bodies）是神经元胞质中的一种嗜碱性颗粒状结构，主要由粗面内质网和游离核糖体组成，其核心功能是合成蛋白质，尤其是与神经元活动密切相关的蛋白质[14]。神经细胞中尼氏体体积增大、数量增多，表明其蛋白质合成功能活跃；但在神经元损伤后，尼氏体会减少甚至消失[15]，但尼氏体的病变是可逆的，当神经功能增强时，尼氏体数量会明显增多[16−17]。

如图 2 所示，正常对照组尼氏体染色均匀，神经元结构完整，胞质内富含典型虎斑样尼氏体，相比之下，模型组海马区及皮质区尼氏体染色阳性细胞显著减少了 37.21%、44.79%（P<0.01、P<0.05），并伴有尼氏体固缩及坏死性改变。然而，与模型组相比，经过西红花多糖干预的神经元排列更紧密，细胞形态较为完整，尼氏体染色阳性细胞数量增多，尤其是中、高剂量组海马区及皮质区的尼氏体染色阳性细胞数目显著增加（P<0.05、P<0.01），海马区分别增加了 38.89%、35.19%，皮质区分别增加了 100.00%、135.85%。尼氏体染色表明，D-半乳糖的慢性作用可能会导致海马神经元的损伤，多糖干预能够提高 D-半乳糖诱导衰老小鼠神经元尼氏体数量，改善神经功能。

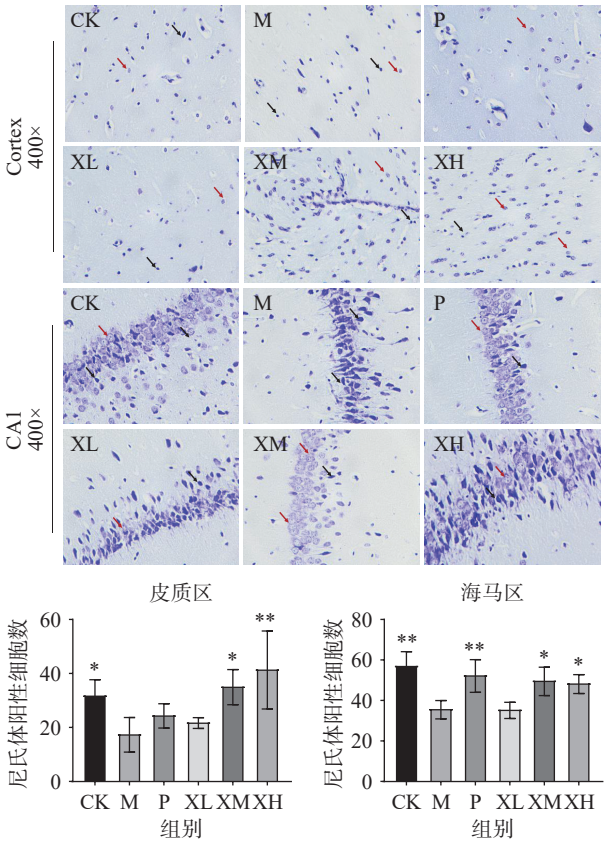


图 2 小鼠脑组织尼氏体染色图及尼氏体阳性细胞数

Fig.2 Nissl staining images of mouse brain tissue and the number of Nissl-positive cells

注：黑色的箭头指向坏死神经元，红色的箭头指向带有尼氏体的神经元，与 M 组相比，*、**分别对应 P<0.05，P<0.01，图 3~图 4 同。

2.5 脑组织 AChE 和 T-NOS 的影响

AChE 是乙酰胆碱（ACh）的水解酶，ACh 是一种神经递质，脑中 ACh 含量的减少会引起记忆和学习能力的减退[18]。在脑组织匀浆中，AChE 的活力可以反映出脑内 ACh 含量的变化[19]。如图 3 所示，与正常对照组相比，模型组小鼠脑内 AChE 活性显著增加（P<0.01），AChE 活性增加了 58.22%，说明大脑发生了衰老损伤[20]。多糖干预组 AChE 的活性均显著低于模型组（P<0.01），说明西红花瓣多糖可能通过降低 AChE 的活性减少 ACh 的分解，改善 D-半乳糖诱导的衰老相关脑功能损伤。

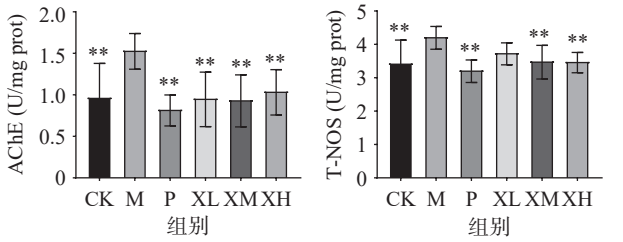


图 3 小鼠脑组织 AchE 和 T-NOS 含量

Fig.3 AchE and T-NOS contents in mouse brain tissue

T-NOS 为一氧化氮合酶，它在神经系统中广泛表达，可催化 L-精氨酸转化为一种重要的神经递质 NO（一氧化氮）。如图 3 所示，与正常对照组相比，模型组 T-NOS 活性显著增强（P<0.01），活力增加了 23.036%，这会导致脑组织中 NO 过量生成，产生细胞毒性，可能促进衰老疾病的发生[21]。经过西红花瓣多糖干预后，T-NOS 活力下降，并呈剂量依赖关系，其中西红花瓣多糖中、高剂量组 T-NOS 活力分别显著下降了 17.22%、17.56%（P<0.01）。

整体来看，西红花瓣多糖可以通过影响脑组织中 AChE 和 T-NOS 活性，来改善脑组织微环境，从而缓解 D-半乳糖诱导的衰老损伤进程。

2.6 脑组织 P53、Bax、Caspase-3 表达的影响

p53 是重要的肿瘤抑制蛋白，应激激活后可诱导细胞周期停滞或凋亡[22]。Bax 又称凋亡蛋白 B-淋巴细胞-2 相关 X 蛋白，是一种促凋亡蛋白。Bax 会在细胞受到损伤或应激时，增加线粒体通透性，激活 Caspase 家族，促进凋亡信号释放，导致细胞凋亡。Caspase-3 即半胱氨酸蛋白酶-3，又称死亡蛋白执行酶，通常以无活性的酶元存在，活化后变成有活

性的 Caspas-3，可导致细胞凋亡进入不可逆的阶段。如图 4 所示，与正常对照组相比，模型组 P53、Bax、Caspase-3 蛋白表达上调了 48.41%、25.08%、37.91%（P<0.05），这一结果提示 D-半乳糖造模成功，其通过氧化应激激活 p53-Bax-Caspase-3 凋亡通路，造成神经元不可逆损伤。与模型组相比，西红花瓣多糖以剂量依赖方式抑制其蛋白表达，其中西红花瓣多糖高剂量组 P53、Bax、Caspase-3 蛋白表达分别显著下调了 37.88%、37.12%、30.02%（P<0.05）。其机制可能涉及抗氧化、调控 Bcl-2 家族及直接干预 Caspase 活化级联。

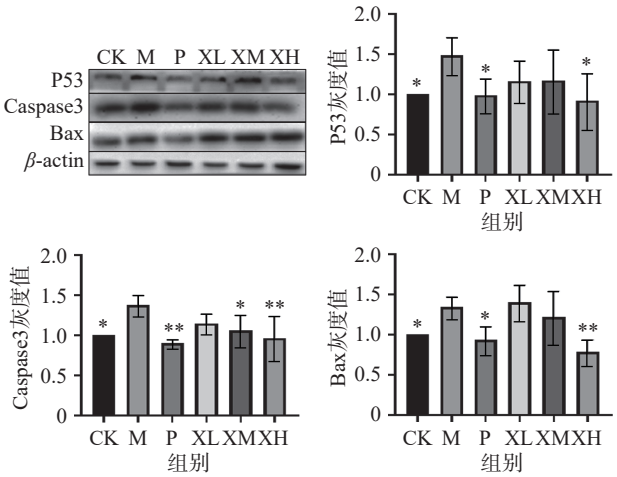


图 4　小鼠脑组织 P53、Bax、Caspase-3 蛋白表达量

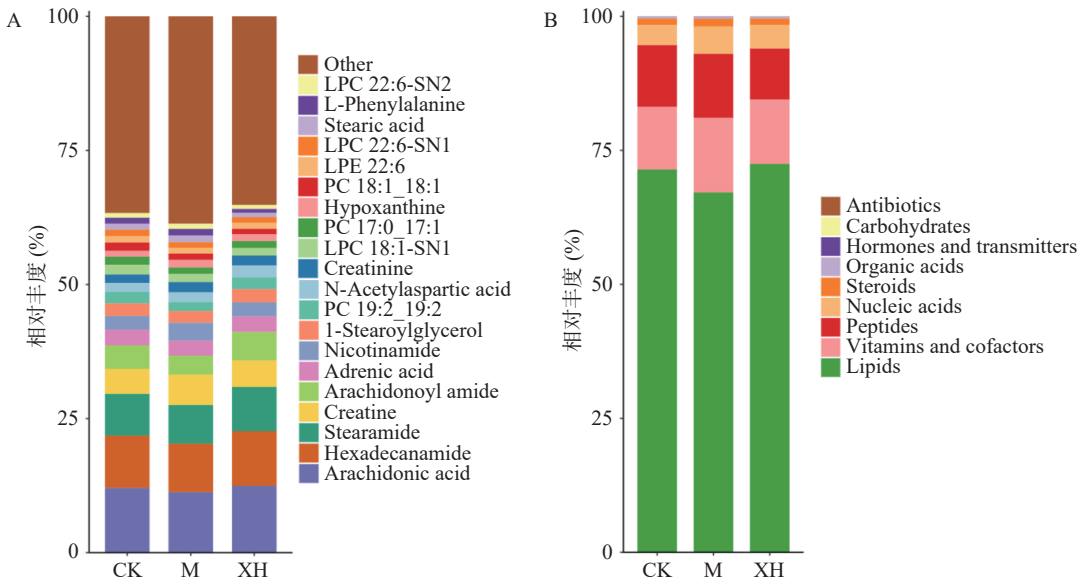
Fig.4　Expression levels of P53, Bax and Caspase-3 proteins in mouse brain tissue

2.7　脑组织的主要代谢物分析

根据前文研究结果，西红花瓣多糖高剂量组表现出显著的治疗效果。为进一步明确药物干预对代谢的影响，本研究聚焦于代谢变化分析，故选取正常对照组、模型组和西红花瓣多糖高剂量组三组样本进行代谢物含量差异的统计分析。如图 5A 所示，排名前 20 的代谢物分别为：Arachidonic acid、Hexadecanamide、Stearamide、Creatine、Arachidonoyl amide、Adrenic acid、Nicotinamide、1-Stearoylglycerol、PC 19:2_19:2、N-Acetylaspartic acid、Creatinine、LPC 18:1-SN1、PC 17:0_17:1、Hypoxanthine、PC 18:1_18:1、LPE 22:6、LPC 22:6-SN1、Stearic acid、L-Phenylalanine、LPC 22:6-SN2。肌酸（Creatine）与能量代谢密切相关，是神经元和轴突完整性标志。一些假说还认为肌酸可以通过影响能量供应来保护神经提高认知功能[23]，肌酸在不同状态下含量保持稳定，可作为其他代谢物的参照标准[24]。与正常组相比，模型组 N-乙酰天冬氨酸/肌酸的比值下降了 10.31%。与模型组相比，西红花瓣多糖使脑组织 N-乙酰天冬氨酸/肌酸的比值提高了 39.48%，可促进神经细胞修复，改善脑损伤小鼠的神经功能[25]。

在脑组织中，有些代谢物扮演着非常重要的生物角色，比如说脂质、维生素、多肽等，利用 KEGG 数据库对代谢物扮演的生物角色进行标注，得到生物学角色百分比含量堆积柱形图。如图 5B 所示，这些代谢物扮演的生物角色分别为：Lipid（脂质）、Vitamins and cofactors（维生素及辅因子）、Peptides（肽）、Nucleic acids（核酸）、Steroids（类固醇）、Organic acids（有机酸）、Hormones and transmitters（激素与神经递质）、Carbohydrates（碳水化合物）、Antibiotics（抗生素）。大脑是脂质含量最高的器官之一，其对于维护神经结构及功能十分重要，介导各种信号转导[26]。模型组脂质含量占所有代谢物的 67%，与正常组相比下调了约 6%。西红花瓣多糖高剂量组与模型组相比，脂质代谢物的含量上调了 7.94%。

为了探究不同样本间的相似性特征，可以采用聚类分析方法对样本进行分类。具体而言，通过筛选目标代谢物，基于样本的代谢物组成进行聚类分析，从而评估不同样本或分组间的相似性或差异性。如图 5C 所示，不同分组的样本在聚类图中分布于不同



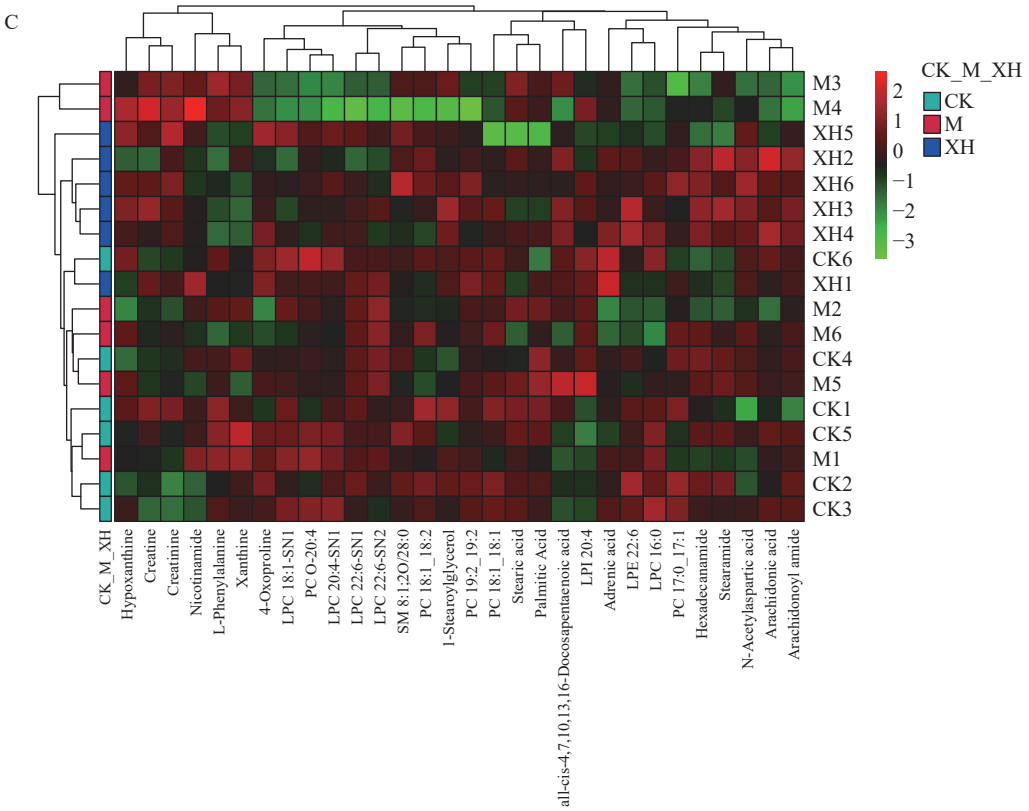


图 5 小鼠脑代谢物含量

Fig.5 Metabolites in mouse brain tissue

注: A. 主要代谢物含量; B. 扮演的生物学角色; C. 聚类热图。

表 2 聚类分析的 30 种目标代谢物

Table 2 30 target metabolites used for cluster analysis

脂肪酸及其衍生物	神经酰胺与酰胺类	能量代谢相关	磷脂类	氨基酸与衍生物	维生素与辅因子	甘油酯类
Arachidonic acid 花生四烯酸	Hexadecanamide 十六酰胺	Creatine 肌酸	PC 19:2_19:2 磷脂酰胆碱	L-Phenylalanine L-苯丙氨酸	Nicotinamide 烟酰胺	1-Stearoylglycerol 1-硬脂酰甘油
Adrenic acid 肾上腺酸	Stearamide 硬脂酰胺	Creatinine 肌酐	PC 17:0_17:1 磷脂酰胆碱	4-Oxoproline 4-氧代脯氨酸		
Stearic acid 硬脂酸	Arachidonoyl amide 花生四烯酰胺	Hypoxanthine 次黄嘌呤	PC 18:1_18:1 磷脂酰胆碱	N-Acetylaspartic acid N-乙酰天冬氨酸		
Palmitic Acid 棕榈酸		Xanthine 黄嘌呤	PC 18:1_18:2 磷脂酰胆碱			
all-cis-4,7,10,13,16-Docosapentaenoic 全顺式-4,7,10,13,16-二十二碳五烯酸			PC O-20:4 醚型磷脂酰胆碱			
			LPC 16:0 溶血磷脂酰胆碱			
			LPC 18:1-SN1 溶血磷脂酰胆碱			
			LPC 20:4-SN1 溶血磷脂酰胆碱			
			LPC 22:6-SN1 溶血磷脂酰胆碱			
			LPC 22:6-SN2 溶血磷脂酰胆碱			
			LPE 22:6 溶血磷脂酰乙醇胺			
			LPI 20:4 溶血磷脂酰肌醇			
			SM 8:1;2O/28:0 鞘磷脂			

区域, 表明各组间在这 30 种代谢物的组成结构上存在显著差异。这些代谢物如表 2 所示。磷脂酰胆碱是细胞膜的主要成分, 尤其是神经元膜的主要成分, 磷脂酰胆碱代谢紊乱会影响细胞膜结构中的脂质运

输以及整合膜蛋白的转运调控[27]。模型组各种磷脂酰胆碱均下调，可能反映神经元膜氧化损伤，西红花瓣多糖干预组这种情况有所缓解。花生四烯酸是脑中半必需的不饱和脂肪酸，通常被酯化成磷脂用于神经元、胶质细胞和内皮细胞的细胞膜构成，参与脑代谢的调节，一些神经性疾病患者表现出花生四烯酸代谢异常[28]。模型组相对于正常对照组来说，脑组织花生四烯酸下调，在西红花瓣多糖干预后上调。

2.8　脑组织代谢物有监督的最小二乘判别分析

利用偏最小二乘判别分析（PLS-DA），研究三组小鼠的脑组织上清液代谢物的差异。如图 6A~图 6B 所示，模型组与正常对照组完全分离，说明脑组织内源性代谢产物差异比较明显，同时也说明连续对小鼠颈背部皮下注射 D-半乳糖对其脑组织小分子代谢物产生影响。模型组与多糖干预组完全分离且相隔较远，说明西红花瓣多糖干预对 D-半乳糖引起的小鼠脑代谢异常产生了较大影响。

为了进一步研究 3 组样本的分离情况，进行正交偏最小二乘判别分析（OPLS-DA），如图 6C~图 6F 所示，正常对照组和模型组、模型组和多糖剂量组相比，组间分离度进一步提高，说明模型组与正常对照组的代谢差异不仅显著，而且可能由特定的关键代谢物驱动。通过置换检验评估，计算模型的 R^2Y（模型在训练集的预测能力）和 Q^2Y（模型在交叉验证的验证集中的预测能力），pR^2Y 和 pQ^2 均小于 0.05，说明以上模型比较可靠。

2.9　脑组织中差异代谢物的鉴定

选择潜在变量作为生物标志物的依据是 OPLS-DA 模型中 VIP 大于 1，P 值小于 0.05。如图 7 所示，模型组与多糖干预组相比，共筛选出 320 种差异代谢物。除代谢物组间差异显著性外，其变化幅度亦需量化评估，代谢物变化的倍数（Fold Change，FC）可衡量不同组间代谢物是否发生变化、差异是否显著以及变化的大小程度。黄色区域的代谢物是 P 值（未校正）小于 0.05，$\log_2$（FC）绝对值大于 1 的代谢物，这些显著差异代谢物具有较大变化幅度，需优先关注。

基于单维统计结果，筛选差异最显著的 25 个代谢物进行箱线图可视化分析，如图 8 所示，这 25 个代谢物分别为：Glutamine、L-Cystine、SHexCer 34:1;2O、SHexCer 36:2;2O、D-(-)-Glutamine、Cyclocytidine、D-Glucose 6-phosphate、Tetranor-12R-HETE、L-Glutamic acid、D-Sedoheptulose 7-phosphate、γ-Aminobutyric acid（GABA）、N-Acetyl-L-carnosine、Hexanoylglycine、SHexCer 42:3;2O、L-(+)-Citrulline、DL-2-(acetylamino)-3-phenylpropanoic acid、1-Methylguanine、Propionyl-L-carnitine、N1-[3-(trifluoromethyl) phenyl]-4-chlorobenzamide、Xanthurenic acid、Asp-Phe methyl ester、6-Phosphogluconic acid、N6-Isopentenyladenosine、N-benzoyl-N'-(2-chlorophenyl) thiourea、Cytidine 5'-Monophosphate-N-Acety-

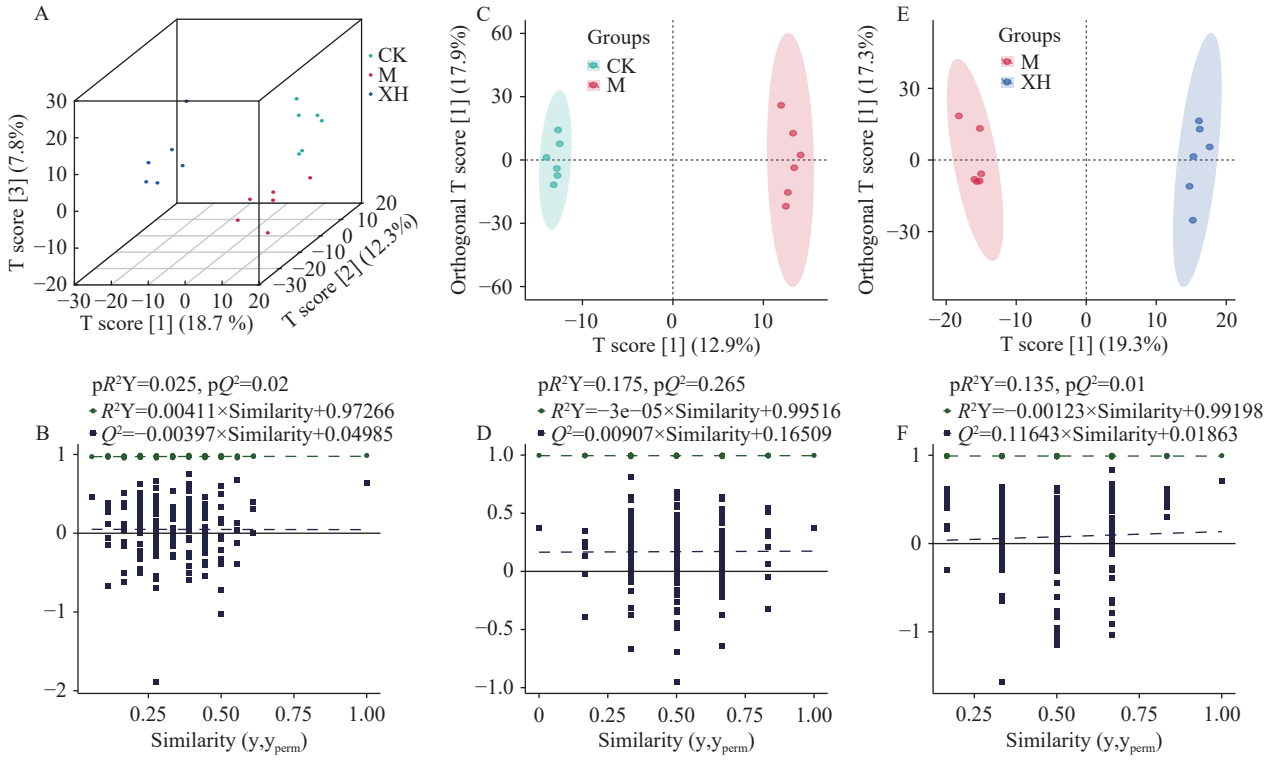


图 6　小鼠脑组织代谢物有监督的最小二乘判别分析

Fig.6　Supervised least squares discriminant analysis of metabolites in mouse brain tissue

注：A、B 分别为 PLS-DA 得分图及置换检验；C、D 为正常对照组与模型组的 OPLS-DA；E、F 为模型组与西红花瓣多糖干预组的 OPLS-DA。

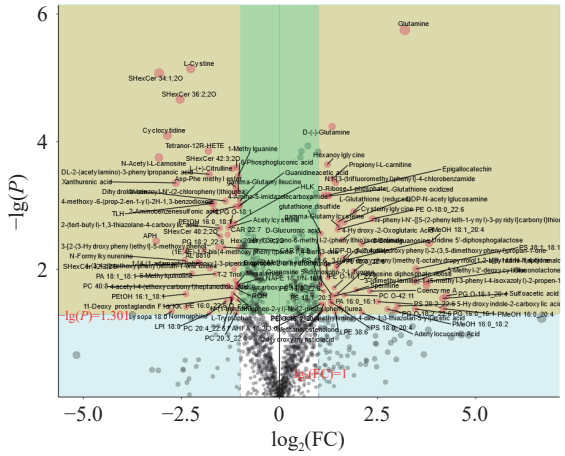


图 7 小鼠脑组织差异代谢物变化火山图

Fig.7 Volcano plot of fold changes in differential metabolites in mouse brain tissue

lneuraminic Acid。这些代谢物涉及多个代谢途径，主要包括氨基酸代谢、脂质代谢、糖代谢和神经递质代谢等。这些代谢物在细胞代谢中扮演重要角色，涉及能量产生、信号传导、细胞结构和功能维持等多个方面。

2.10 代谢通路分析

为了进一步研究样品对衰老小鼠脑代谢的影响，通过功能富集分析，系统筛选在特定生物化学过程中显著富集的关键信号通路，以深入解析该过程的分子调控机制，图 9A 揭示了有差异的代谢物显著富集的代谢通路。

非靶向代谢组学分析结果表明，差异代谢物涉及到的代谢途径主要富集在：a.氨基酸及其相关代谢：氨基酸生物合成（丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢、精氨酸生物合成、苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸代谢、

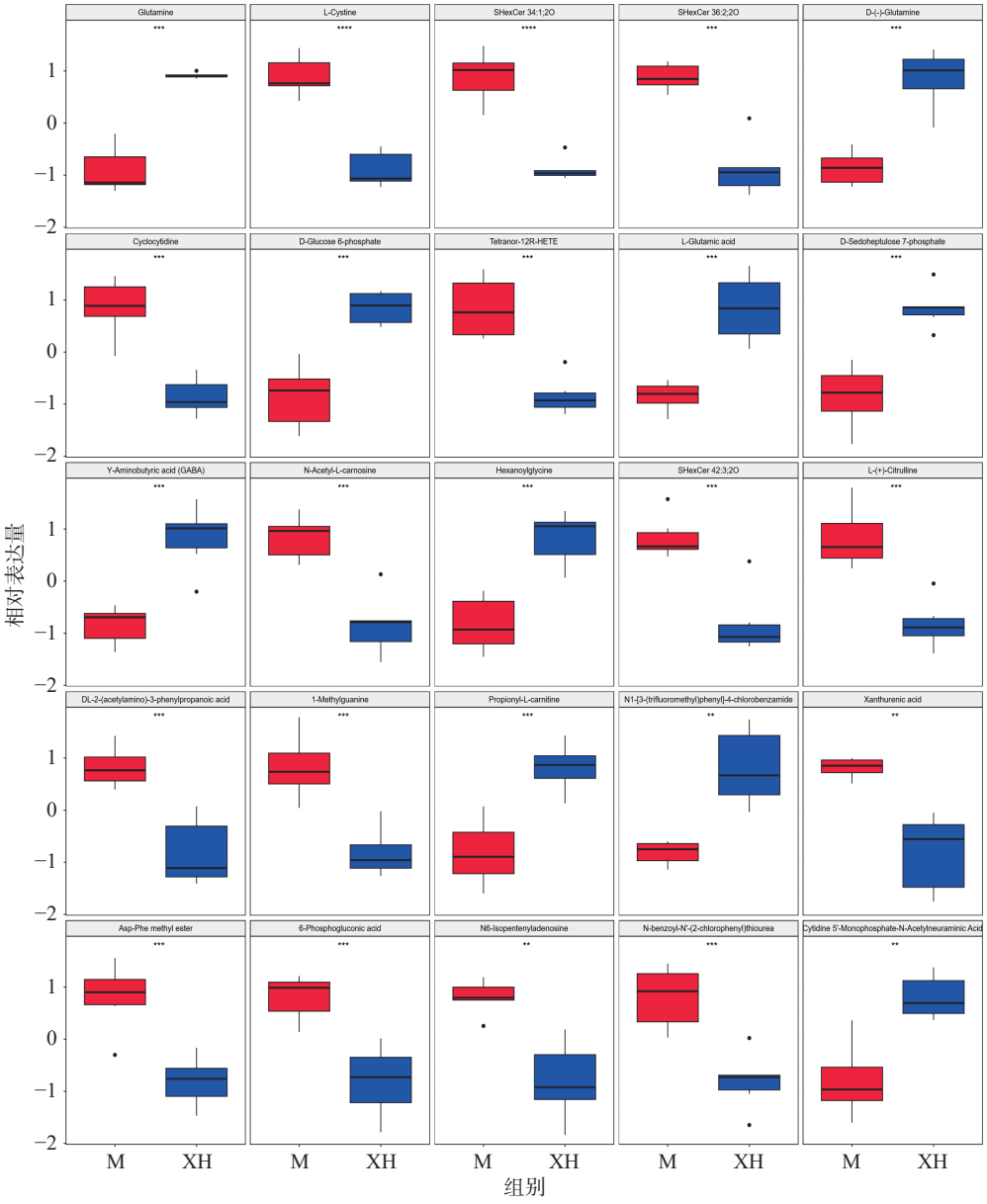


图 8 小鼠脑组织差异代谢物箱式图

Fig.8 Box plot of differential metabolites in mouse brain tissue

注：*, **, ***分别对应 P<0.05, P<0.01, P<0.001。

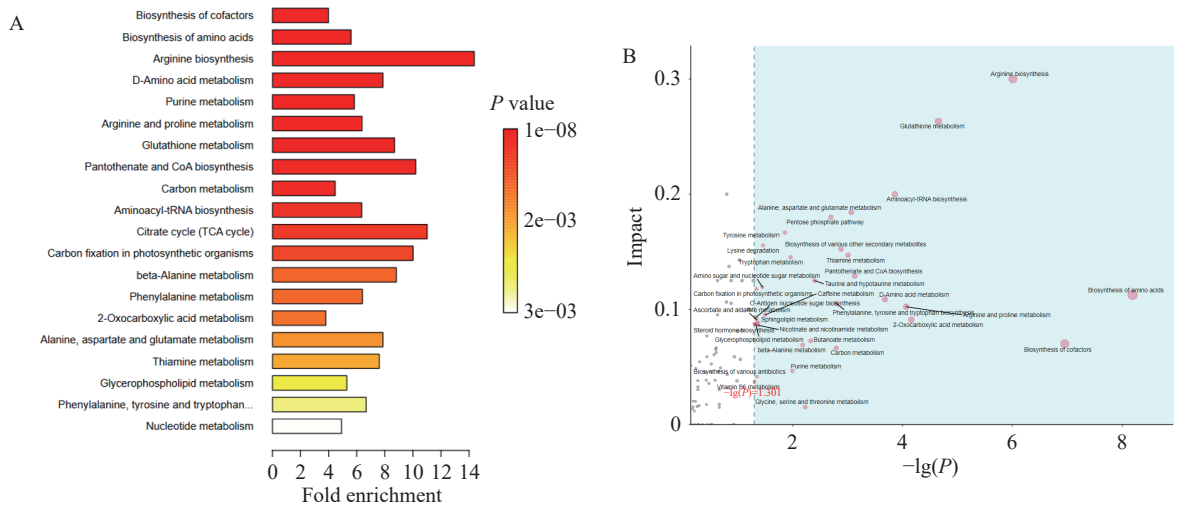


图 9　通路富集分析

Fig.9　Pathway enrichment analysis

注：A. ORA 分析；B. 拓扑分析。

精氨酸和脯氨酸代谢、甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢），氨基酸衍生物代谢（谷胱甘肽代谢、牛磺酸和亚牛磺酸代谢、D-氨基酸代谢、β-丙氨酸代谢），氨酰-tRNA 生物合成；b.能量与碳骨架代：磷酸戊糖途径、2-氧代羧酸代谢、丁酸代谢；c.辅因子与维生素代谢：辅因子的生物合成、硫胺素代谢、泛酸和辅酶 A 生物合成；d.核苷酸代谢：嘌呤代谢。其中精氨酸生物合成、谷胱甘肽代谢的生物合成这两个代谢通路需

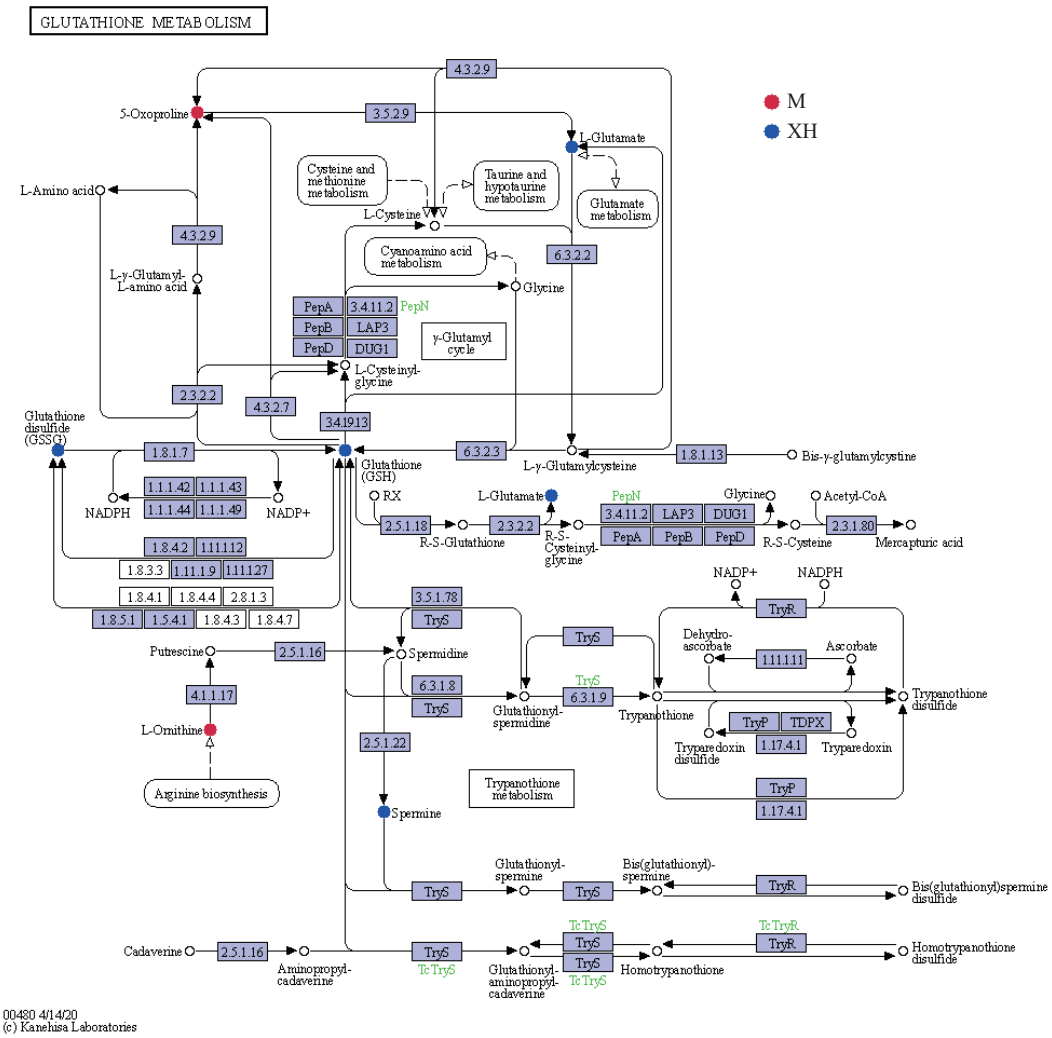


图 10　谷胱甘肽代谢途径

Fig.10　Glutathione metabolism

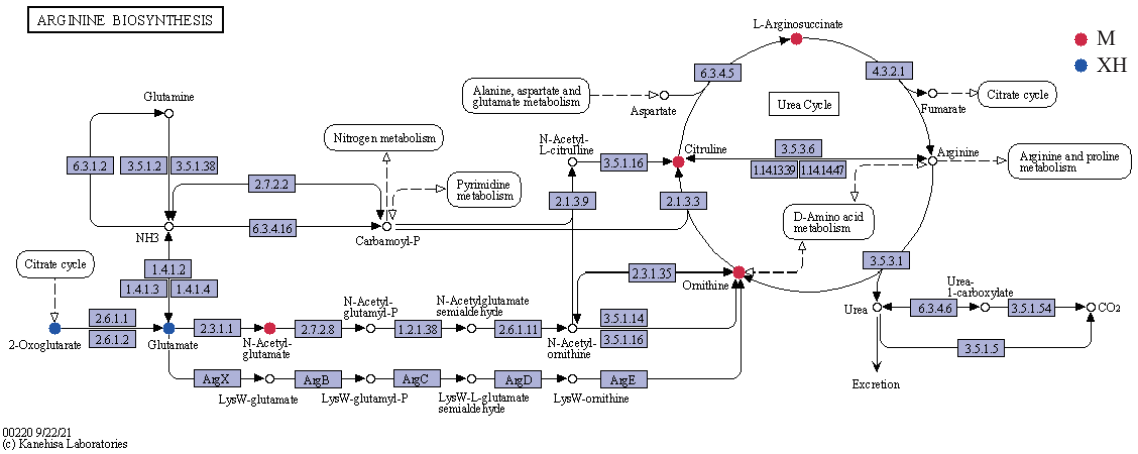


图 11 精氨酸代谢途径分析

Fig.11 Analysis of arginine metabolic pathway

要重点关注。

传统的富集分析仅能揭示差异代谢物在通路水平的分布特征，而拓扑分析则进一步量化了各代谢物在通路网络中的影响力。通过计算 Impact 指标，可精确评估特定代谢物对通路功能的关键性贡献。如果一个代谢物下游没有任何通路或者基因，则这个代谢物所起的作用几乎为 0，如果这个代谢物靠近上游，下游有很多其他代谢物或基因，则这个代谢物对该通路影响较大。拓扑分析图的横坐标为 ORA 分析的 P 值，蓝色区域代表 P<0.05；纵坐标为拓扑分析 Impact 值，红色的圆点是我们应当格外关注的代谢物。如图 9B 所示，精氨酸的生物合成和谷胱甘肽的代谢是首要关注的代谢通路，这与 ORA 富集分析结果一致。

一些重要氨基酸水平的变化与衰老密切相关[29−30]。谷氨酰胺(Glutamine)、D-(-)-谷氨酰胺(D-(-)-Glutamine)、L-谷氨酸(L-Glutamic acid)这些代谢物参与谷氨酰胺代谢和谷氨酸代谢。模型组谷氨酸及谷氨酰胺含量明显低于多糖干预组，可能与 D-半乳糖诱导的氧化应激导致神经元损伤和代谢紊乱有关。氧化应激破坏线粒体功能，影响能量代谢，减少谷氨酸合成。西红花瓣多糖通过其抗氧化活性改善能量代谢，减轻氧化应激，保护线粒体功能[31]，维持谷氨酸正常合成。

谷氨酸是谷胱甘肽(GSH)的前体，其水平影响 GSH 合成。GSH 可作为自由基清除剂，保护血脑屏障的完整性，降低脑组织的损伤程度。GSH 也在衰老及相关疾病中起关键作用，参与细胞凋亡调控。凋亡细胞 GSH 水平较低，补充 GSH 前体可延缓凋亡[32]。在衰老的过程中，GSH 代谢途径发生显著变化，有研究表明 GSH 代谢水平的高低对维持骨骼肌干细胞年轻化具有重要作用[33]。此外，GSH 代谢不仅关乎抗氧化防御，还与线粒体铁代谢、能量生成紧密偶联[34]。如图 10 所示，在西红花瓣多糖干预下，GSH 代谢途径的合成起始及反应分支底物富集，表明底物供应充足，GSH 消耗或转化增加，可能在解毒、抗氧化及信号传导中发挥重要作用。

精氨酸代谢在衰老过程中常发生失调，表现为鸟氨酸、瓜氨酸水平随年龄上升，而精氨酸水平下降[35]。精氨酸代谢涉及一氧化氮(NO)合成、尿素循环和多胺合成。精氨酸通过尿素循环转化为鸟氨酸和尿素，清除体内氨毒性，其代谢产物多胺(如腐胺、精胺)参与细胞增殖、分化和神经保护。衰老过程中衰老细胞内精氨酸浓度明显低于年轻细胞[36]，导致氨清除能力下降。如图 11 所示，西红花瓣多糖可通过激活精氨酸代谢，改善脑组织微循环和神经功能，缓解衰老相关变化。

此外，丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢作为与年龄相关的代谢途径[37]，具有抗氧化和抗衰老作用[38]。牛磺酸和次牛磺酸能调节衰老[39]。嘌呤代谢通路参与认知功能调控，其代谢产物与氧化应激及认知障碍存在显著关联[40]。β-丙氨酸代谢中的 β-丙氨酸可通过调节 cAMP-PKA 和凋亡信号通路来增强小鼠的空间学习和记忆以及抗疲劳能力[41]。泛酸和辅酶 A 生物合成通路调控小鼠物质与能量代谢[42]。

3 结论与展望

本研究探讨了西红花瓣多糖的抗衰老作用及其潜在作用机制。研究结果显示，西红花瓣多糖干预能有效改善神经元功能、调节脑组织中 T-NOS 和 AChE 的活性、下调 P53、Bax、Caspase-3 蛋白表达。脑代谢组分析进一步揭示了西红花瓣多糖可调控精氨酸生物合成和谷胱甘肽代谢两条关键通路。综上所述，本研究不仅证实了西红花瓣多糖在维持神经元结构和功能完整性方面的显著效果，更从关键蛋白、代谢通路层面阐明了其抗衰老作用的分子基础，这些发现为天然多糖在年龄相关的疾病防治中的应用提供了重要的理论支持。

© 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］ WU Yuanfeng, GONG Yucui, SUN Juan, et al. Bioactive components and biological activities of *Crocus sativus* L. byproducts: A comprehensive review[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2023, 71(49): 19189−19206.

［2］ 任星, 高蕊, 杨静, 等. 基于网络药理学探讨藏红花治疗抑郁症的作用机制[J]. 中国药理学通报, 2021, 37(9): 1318−1324. ［REN Xing, GAO Rui, YANG Jing, et al. Mechanisms of saffron in treatment of depression based on network pharmacology[J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2021, 37(9): 1318−1324.］

［3］ 王少贤, 陈紫薇, 冯佩诗, 等. 西红花抗抑郁和保肝作用机制研究进展[J]. 中草药, 2024, 55(21): 7530−7538. ［WANG Shaoxian, CHEN Ziwei, FENG Peishi, et al. Research progress on antidepression and hepatoprotective effects of Croci Stigma[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2024, 55(21): 7530−7538.］

［4］ HE Yanfei, PENG Haoxuan, ZHANG Huifang, et al. Structural characteristics and immunopotentiation activity of two polysaccharides from the petal of *Crocus sativus*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 180: 129−142.

［5］ DING J, JI J, RABOW Z, et al. A metabolome atlas of the aging mouse brain[J]. Nature Communications, 2021, 12: 6021.

［6］ SOLOMEVICH S O, ORANGES C M, KALBERMATTEN D F, et al. Natural polysaccharides and their derivatives as potential medical materials and drug delivery systems for the treatment of peripheral nerve injuries[J]. Carbohydrate Polymers, 2023, 315: 120934.

［7］ 于奇. 东北林蛙皮多糖提取分离、结构及生物活性研究[D]. 长春: 长春中医药大学, 2022. ［YU Qi. Study on extraction, isolation, structure and bioactivity of polysaccharide from *Rana chensinensis* skin[D]. Changchun: Changchun University of Chinese Medicine, 2022.］

［8］ 包晓玮, 李建瑛, 任薇, 等. 沙棘多糖对 D 半乳糖致衰老小鼠的抗氧化作用[J]. 食品工业科技, 2020, 41(4): 293−297,306. ［BAO Xiaowei, LI Jianying, REN Wei, et al. Antioxidant effects of *Hippophae rhamnoides* polysaccharide on aging mouse induced by D-galactose[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(4): 293−297,306.］

［9］ 刘憬曈, 蔡晴晴, 胡少伟, 等. 基于 MAPK 信号通路探讨生脉注射液干预脑缺血后炎症环节的作用机制[J]. 中国中药杂志, 2025, 50(18): 5238−5248. ［LIU Jingtong, CAI Qingqing, HU Shaowei, et al. Mechanism of Shengmai injection in intervening in inflammatory response following cerebral ischemia based on MAPK signaling pathway[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2025, 50(18): 5238−5248.］

［10］ 司沛沛, 周晓辉, 贾丽景, 等. 红景天对癫痫小鼠认知功能障碍的改善作用研究[J]. 中药材, 2025, 48(4): 985−990. ［SI Peipei, ZHOU Xiaohui, JIA Lijing, et al. Effect of *Rhodiola sachalinensis* on cognitive dysfunction in epileptic mice[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2025, 48(4): 985−990.］

［11］ LIAO Aimei, LÜ Xing, MA Jiarui, et al. Multi-protective effects of wheat embryo globulin on D-gal-induced aging mice[J]. Food Science and Human Wellness, 2023, 12(4): 1300−1308.

［12］ 林晓雅, 林莹莹, 张亚飞, 等. 母乳低聚糖改善 D-半乳糖致衰老小鼠的肠道屏障损伤[J]. 食品工业科技, 2026, 47(3): 412−419. ［LIN Xiaoya, LIN Yingying, ZHANG Yafei, et al. Human milk oligosaccharides improve the intestinal barrier in D-galactose-induced aging mice[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(3): 412−419.］

［13］ 吴洁洁, 李思璐, 黄子倩, 等. 丹参叶水提物对小鼠抗氧化药效学研究[J]. 海峡药学, 2023, 35(6): 25−32. ［WU Jiejie, LI Silu, HUANG Ziqian, et al. Study on antioxidative pharmacodynamics of aqueous extract of *Salvia miltiorrhiza* bge leaves in mice[J]. Strait Pharmaceutical Journal, 2023, 35(6): 25−32.］

［14］ 刘宇欣, 王雅梦, 成思敏, 等. 知母-黄柏对 D-gal 认知功能障碍模型小鼠海马神经元细胞异常自噬的影响[J]. 海南医学院学报, 2024, 30(19): 1459−1467. ［LIU Yuxin, WANG Yameng, CHENG Simin, et al. Effect of Rhizoma-Anemarrhenae-Cortex Phellodendri on abnormal autophagy of hippocampal neurons in D-gal cognitive impairment model mice[J]. Journal of Hainan Medical University, 2024, 30(19): 1459−1467.］

［15］ 李丹, 孙洁芸, 高敏娜, 等. 血管性痴呆大鼠海马尼氏体和神经元核抗原的表达变化[J]. 激光杂志, 2013, 34(3): 87−89. ［LI Dan, SUN Jieyun, GAO Minna, et al. Changes of nissl bodies and expression of neuN in hippocampus of rats with vascular dementia[J]. Laser Journal, 2013, 34(3): 87−89.］

［16］ LIU Yi, LIU Changbin, QIN Chuan, et al. Evaluation of the effect of myelotomy on nerve function in rats with spinal cord injury by diffusion tensor imaging[J]. Acta Radiologica, 2021, 62(12): 1666−1673.

［17］ ZHENG Ping, JIA Shuangzheng, GUO Dalong, et al. Central sensitization-related changes in brain function activity in a rat endometriosis-associated pain model[J]. Journal of Pain Research, 2020, 13: 95−107.

［18］ WANG Qi, LI Ying, LI Kunwei, et al. Sophoridine: A review of its pharmacology, pharmacokinetics and toxicity[J]. Phytomedicine, 2022, 95: 153756.

［19］ KAVIANI E, RAHMANI M, KAEIDI A, et al. Protective effect of atorvastatin on d-galactose-induced aging model in mice[J]. Behavioural Brain Research, 2017, 334: 55−60.

［20］ LEE B C, MOON B S, PARK H S, et al. The position of fluorine in CP-118, 954 affects AChE inhibition potency and PET imaging quantification for AChE expression in the rat brain[J]. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2017, 109: 209−216.

［21］ YIN Hong, SHI Zhenguo, YU Yongsheng, et al. Protection against osteoporosis by statins is linked to a reduction of oxidative stress and restoration of nitric oxide formation in aged and ovariectomized rats[J]. European Journal of Pharmacology, 2012, 674(2−3): 200−206.

［22］ GUO Yunbao, BAO Xinjie, XU Songbai, et al. Honokiol induces cell cycle arrest and apoptosis *via* p53 activation in H4 human neuroglioma cells[J]. International Journal of Clinical and Experimental Medicine, 2015, 8(5): 7168−7175.

［23］ AVGERINOS K I, SPYROU N, BOUGIOUKAS K I, et al. Effects of creatine supplementation on cognitive function of healthy individuals: A systematic review of randomized controlled trials[J]. Experimental Gerontology, 2018, 108: 166−173.

［24］ NIKOLOVA S, SCHWEDT T J. Magnetic resonance spectroscopy studies in migraine[J]. Neurobiology of Pain, 2022, 12: 100102.

［25］ LIU Su, SHEN Guangyu, DENG Shukun, et al. Hyperbaric oxygen therapy improves cognitive functioning after brain injury[J]. Neural Regeneration Research, 2013, 8(35): 3334−3343.

［26］ ETSCHMAIER K, BECKER T, EICHMANN T O, et al. Adipose triglyceride lipase affects triacylglycerol metabolism at brain barriers[J]. Journal of Neurochemistry, 2011, 119(5): 1016−1028.

［27］ 杨晓莉. 阿尔茨海默病中代谢物及相关通路紊乱的研究

[D]. 合肥: 中国科学技术大学, 2023. [YANG Xiaoli. Research on the disruption of metabolites and related pathways in Alzheimer's disease[D]. Hefei: University of Science and Technology of China, 2023.]

[28] 刘蓓蓓. 动脉粥样硬化诱发的海马代谢异常影响突触可塑相关蛋白表达的机制及运动的调节作用[D]. 上海: 上海体育学院, 2021. [LIU Beibei. The mechanisms of metabolic changes in the hippocampus of atherosclerostic rat affecting synaptic plasticity associated proteins expression and regulation of running exercise [D]. Shanghai: Shanghai University of Sport, 2021.]

[29] XU Wei, HAN Shuai, HUANG Mengzhen, et al. Antiaging effects of dietary polysaccharides: Advance and mechanisms[J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2022, 2022: 4362479.

[30] PU Xiuying, LUO Amiao, SU Hui, et al. Optimization and mechanism of postponing aging of polysaccharides from Chinese herbal medicine formula[J]. Toxicology Research, 2020, 9(3): 239−248.

[31] CHOUDHARY S, KUMAR V, SHARMA K, et al. Crocetin delays brain and body aging by increasing cellular energy levels in aged C57BL/6J mice[J]. ACS Pharmacology & Translational Science, 2024, 7(10): 3017−3033.

[32] SASTRE J, PALLARDÓ F V, VIÑA J. Glutathione, oxidative stress and aging[J]. AGE, 1996, 19(4): 129−139.

[33] BENJAMIN D I, BRETT J O, BOTH P, et al. Multiomics reveals glutathione metabolism as a driver of bimodality during stem cell aging[J]. Cell Metabolism, 2023, 35(3): 472−486. e6.

[34] LIU Y Y, LIU S S, TOMAR A, et al. Autoregulatory control of mitochondrial glutathione homeostasis[J]. Science, 2023, 382(6672): 820−828.

[35] REISZ HAINES J A, EARLEY E, NEMKOV T, et al. Arginine metabolism is a biomarker of red blood cell and human aging[J]. Blood, 2024, 144: 3835.

[36] LI Rui, LI Yan, JIANG Kun, et al. Lighting up arginine metabolism reveals its functional diversity in physiology and pathology[J]. Cell Metabolism, 2025, 37(1): 291−304. e9.

[37] RAJESWARI T S, RADHA E. Metabolism of the glutamate group of amino acids in rat brain as a function of age[J]. Mechanisms of Ageing and Development, 1984, 24(2): 139−149.

[38] LI Na, LI Quancen, HE Xiaoyu, et al. Antioxidant and antiaging activities of *Laminaria japonica* polysaccharide in *Caenorhabditis* elegans based on metabonomic analysis[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 221: 346−354.

[39] LUO Duosheng, CHEN Kechun, LI Jingbiao, et al. Gut microbiota combined with metabolomics reveals the metabolic profile of the normal aging process and the anti-aging effect of FuFang Zhenshu TiaoZhi(FTZ) in mice[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2020, 121: 109550.

[40] LIU Z, FAYYAZ S, ZHAO D, et al. *Polygonatum sibiricum* polysaccharides improve cognitive function in D-galactose-induced aging mice by regulating the microbiota-gut-brain axis[J]. Journal of Functional Foods, 2023, 103: 105476.

[41] MA Y L, YANG Y, THAKUR K, et al. Evaluation of spatial memory and anti-fatigue function of long-term supplementation of *β*-alanine and confirmation through cAMP-PKA and apoptosis pathways in mice[J]. eFood, 2021, 2(4): 185−192.

[42] 刘璐, 朱明雪, 李奇玮, 等. 四君子汤干预小鼠肾组织增龄性改变的代谢组学研究[J]. 中医药学报, 2017, 45(4): 48−53. [LIU Lu, ZHU Mingxue, LI Qiwei, et al. Intervention effect of sijunzi decoction to ageing changes of nephridial tissue based on metabonomics[J]. Acta Chinese Medicine and Pharmacology, 2017, 45(4): 48−53.]