

[药材资源]

## 鹿角与鹿茸蛋白质鉴定

杨欢<sup>1</sup>, Roselyn Tehzee Gblinwon<sup>1</sup>, 杨娅娅<sup>1</sup>, 王强<sup>1</sup>, 陈香<sup>2\*</sup>, 卢梦瑶<sup>1</sup>, 郑晗雪<sup>1</sup>,  
吴沅臻<sup>1</sup>, 夏国华<sup>1\*</sup>, 沈玉萍<sup>1</sup>

(1. 江苏大学药学院, 江苏镇江 212013; 2. 镇江市食品药品监督检验中心, 江苏镇江 212050)

**摘要:**目的 鉴定鹿角与鹿茸蛋白质。方法 通过 SDS-PAGE、2-DE 分析鹿角与鹿茸蛋白质组成, 比较两者电泳图谱, 找出各自稳定的蛋白质条带或斑点及其差异。将两者 SDS-PAGE 蛋白质条带以胰蛋白酶进行胶内消化后, 采用 MALDI-TOF/TOF 质谱分析, 通过 MASCOT 检索匹配以鉴定蛋白质。结果 在 SDS-PAGE 图谱中, 鹿角在约 75、66.2 kD 处呈现出 2 个清晰的蛋白质条带, 而鹿茸则在约 75、61、45、20 kD 处呈现出 4 个蛋白质条带; 2-DE 分析显示, 鹿角蛋白质斑点集中于 I 区 (pH5~7,  $M_w$  45 kD) 以及 II 区 (pH10,  $M_w$  66.2 kD); 鹿茸蛋白质斑点则主要分布在 III 区 (pH5~7,  $M_w$  45 kD), 另外, 在 pH5~6 和  $M_w$  20 kD 的区域内存在 3 个稳定出现的蛋白质斑点。通过生物质谱分析, 分别从鹿角与鹿茸中鉴定出 2、4 个蛋白质, 评分高于 100。结论 鹿角与鹿茸蛋白质电泳图谱存在明显差异, 可为两者鉴别提供科学依据。

**关键词:** 鹿角; 鹿茸; 蛋白质; 电泳; 生物质谱

中图分类号: R282.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2022)06-1859-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2022.06.024

## Identification of proteins from *Cervi Cornu* and *Cervi Cornu Pantotrichum*

YANG Huan<sup>1</sup>, ROSELYN Tehzee Gblinwon<sup>1</sup>, YANG Ya-ya<sup>1</sup>, WANG Qiang<sup>1</sup>, CHEN Xiang<sup>2\*</sup>,  
LU Meng-yao<sup>1</sup>, ZHENG Han-xue<sup>1</sup>, WU Yuan-zhen<sup>1</sup>, XIA Guo-hua<sup>1\*</sup>, SHEN Yu-ping<sup>2</sup>

(1. School of Pharmacy, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China; 2. Zhenjiang Food and Drug Supervision and Inspection Center, Zhenjiang 212050, China)

**ABSTRACT:** AIM To identify proteins from *Cervi Cornu* and *Cervi Cornu Pantotrichum*. METHODS SDS-PAGE and 2-DE were used to compare the protein composition of *Cervi Cornu* and *Cervi Cornu Pantotrichum*, and their protein profiles to explore their respective protein bands or spots and ascertain the difference. Subsequently, the SDS-PAGE protein bands subjected to in-gel tryptic digestion had their result ant peptide fragments analyzed by MALDI-TOF/TOF-MS for further identification based on MASCOT matching. RESULTS In SDS-PAGE profiles, two clear protein bands were shown at ca. 75 kD and 66.2 kD for *Cervi Cornu*, and four protein bands were shown at ca. 75 kD, 61 kD, 45 kD and 20 kD for *Cervi Cornu Pantotrichum*. In 2-DE profiles, *Cervi Cornu* found its main protein spots distribution in zone I (pH5-7,  $M_w$  45 kD) and zone II (pH10,  $M_w$  66.2 kD); and *Cervi Cornu Pantotrichum* found its main protein spots distribution in zone III (pH5-7,  $M_w$  45 kD) in addition to three protein spots in area of pH5-6,  $M_w$  20 kD. The biological mass spectrum analysis revealed two and four protein composition differences between *Cervi Cornu* and *Cervi Cornu Pantotrichum*, presenting higher than 100 scores. CONCLUSION The protein profile differences between *Cervi Cornu* and *Cervi Cornu Pantotrichum* provide scientific evidence for their identification.

**KEY WORDS:** *Cervi Cornu*; *Cervi Cornu Pantotrichum*; proteins; electrophoresis; biological mass spectrum

收稿日期: 2021-07-20

基金项目: 国家自然科学基金 (81773855); 镇江市科技计划项目 (SH2020022)

作者简介: 杨欢 (1980—), 男, 教授, 研究方向为中药学

\*通信作者: 陈香 (1981—), 女, 副主任药师, 研究方向为生药学

夏国华 (1977—), 男, 高级实验师, 研究方向为药学

鹿角 *Cervi Cornu* 为鹿科动物马鹿或梅花鹿已骨化的角或锯茸后翌年春季脱落的角基, 鹿茸 *Cervi Cornu Pantotrichum* 为鹿科动物梅花鹿或马鹿的雄鹿未骨化密生茸毛的幼角, 是我国特有的贵重动物药, 具有壮肾阳、益精血、强筋骨等功效<sup>[1]</sup>, 两者经炮制为饮片后入药, 包括鹿角片、鹿角粉、鹿茸片、鹿茸粉。鹿角质量控制依据浸出物含量, 而鹿茸质量控制主要采用显色反应和薄层色谱法, 均缺乏特异性, 给鹿角与鹿茸的真伪鉴别带来困难<sup>[2-5]</sup>。

动物药中蛋白质含量较高且种类丰富, 同一基原动物的不同药用部位中标志蛋白质的种类有别, 特异性较高。SDS-PAGE 和 2-DE 是分析蛋白质的两种重要方法, 在中药质量评价等研究领域已被广泛应用<sup>[6-10]</sup>。邱乙等<sup>[11]</sup>基于差异蛋白质建立了 SDS-PAGE 鉴别僵蚕及其常见伪品的技术, 并利用 2-DE 寻找到冬虫夏草特有的 26 种指标性蛋白质; Baskova 等<sup>[12]</sup>用 2-DE 区分 3 种水蛭唾液腺分泌物的蛋白质和多肽组成。此外, 将蛋白质酶解所得多肽混合物进行软电离, 结合生物信息学分析可进行蛋白质的鉴定<sup>[13]</sup>。Lin 等<sup>[14]</sup>结合 SDS-PAGE、2-DE、MALDI-TOF/TOF-MS 分析, 从僵蚕中鉴别出 32 种蛋白质。

因此, 本实验采用 SDS-PAGE 和 2-DE 分析鹿角与鹿茸的蛋白质组成及其差异, 将蛋白质条带进行胰蛋白酶胶内消化, 通过 MALDI-TOF/TOF-MS 分析获取多肽的质谱图, 通过 MASCOT 检索鉴定蛋白质, 为鹿角与鹿茸的鉴别提供科学依据。

## 1 材料

1.1 仪器 AE240 电子分析天平 (0.01 mg, 瑞士 Mettler-Toledo 公司); T-MS 型恒温混匀仪 (宁波拓普森科学仪器有限公司); 1-13 型台式高速离心机 (美国 Sigma 公司); TGL-16M 型高速冷冻离心机 (湖南湘仪实验仪器有限公司); XHF-DY 型高速分散器 (宁波新芝生物科技股份有限公司); T100 型 PCR 仪 (美国 Bio-Rad 公司); SpectraMax Gemini EM 型酶标仪 (美国 Molecular Devices 公司); Ettan IPGphor 3 型等电聚焦仪 (美国 GE Healthcare 公司); Autoflex 型 MALDI-TOF/TOF-MS (美国 Bruker Daltonics 公司); 台式快速离心浓缩干燥器 (美国 Labconco 公司); Alpha 1-2 LD plus 型冻干机 (德国 Christ 公司)。

1.2 试剂 Biosharp 透析袋 (兰杰柯科技有限公司); 蛋白分子量标准 (14.4~116 kD)、BCA 蛋

白浓度测定试剂盒 (上海碧云天生物技术有限公司)。双叉丙烯酰胺、丙烯酰胺、考马斯亮蓝 R-250、碳酸氢铵 (上海生工生物工程股份有限公司); Destreak Rehydration Reagent (美国 GE Healthcare 公司); IPG Strips、Bio-Lyte 3-10 Buffer (美国 Bio-Rad 公司); 二硫苏糖醇、碘代乙酰胺 (分析纯, 美国 Sigma-Aldrich 公司); 乙腈、三氟乙酸 (色谱纯, 美国 Omni 公司); modified trypsin (美国 Promega 公司);  $\alpha$ -cyano-4-hydroxycinnamic acid (美国 Sigma-Aldrich 公司); 甲醇、乙醇、异丙醇、乙酸 (分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 水为超纯水 (Smartplus-P 水纯化系统, 上海康雷分析仪器有限公司)。

1.3 药材 鹿角片、鹿茸片各 9 批, 均由亳州市佰世信中药饮片有限公司提供, 产地吉林, 分别来源于鹿科动物马鹿 *Cervi elaphus* 已骨化的角或角基、马鹿 *Cervi elaphus* 的雄鹿未骨化密生茸毛的幼角, 经镇江市中医院药剂科孙小祥主任中药师鉴定为正品, 具体见表 1。

表 1 样品信息

Tab. 1 Information of samples

药材	编号	批号	药材	编号	批号
鹿角片	CC1	160101	鹿茸片	CP1	160101
鹿角片	CC2	160201	鹿茸片	CP2	160201
鹿角片	CC3	160301	鹿茸片	CP3	160301
鹿角片	CC4	160401	鹿茸片	CP4	160401
鹿角片	CC5	160501	鹿茸片	CP5	160501
鹿角片	CC6	160601	鹿茸片	CP6	160601
鹿角片	CC7	160901	鹿茸片	CP7	160801
鹿角片	CC8	161001	鹿茸片	CP8	160901
鹿角片	CC9	161101	鹿茸片	CP9	161101

## 2 方法

### 2.1 SDS-PAGE 分析

2.1.1 供试品溶液制备 精密称取鹿角粉末 (40 目以下) 100 mg, 置于 50 mL 离心管中, 加入蛋白质裂解液 2.0 mL, 室温、8 000 r/min 高速匀浆 10 min, 匀浆液 12 000 r/min 离心 5 min, 吸出上清液, 即得鹿角蛋白质供试品溶液; 另精密称取 100 mg 鹿茸粉末 (40 目以下), 置于 2.0 mL 离心管中, 加入蛋白质裂解液 0.4 mL, 混匀后超声提取 30 mins, 混悬液 12 000 r/min 离心 5 min, 吸出上清液, 即得鹿茸蛋白质供试品溶液, 在 4 °C 下保存。

2.1.2 分析条件 制备 SDS-PAGE 凝胶 (5% 集成胶, 12% 分离胶), 分别吸取“2.1.1”项下供试品溶液各 15  $\mu$ L、蛋白质混合对照品溶液 5  $\mu$ L, 载

入凝胶泳道。浓缩胶电压设定为 80 V，当溴酚蓝指示剂到达分离胶时，上调电压至 110 V 继续电泳约 50 min，取出凝胶，采用考马斯亮蓝染色法进行染色。

## 2.2 2-DE 分析

2.2.1 供试品溶液制备 分别精密称取鹿角、鹿茸粉末各 2.00 g，加入 5.0 mL 蛋白质裂解液，按“2.1.1”项下方法提取 2 次，合并上清液，超纯水透析，内容物冻干后在 -70 °C 下低温冷冻保存。临用前，加入 200 μL 水化液复溶，并使用 BCA 试剂盒进行蛋白浓度测定。

2.2.2 蛋白质水化与等电聚焦 将供试品溶液中蛋白质质量浓度调整为 3.5 mg/mL，分别吸取 350 μL，再加入 1.75 μL IPG 缓冲液 (pH3~10)，混匀，高速离心 15 min，移取上清液至陶瓷槽中，使 IPG 胶条充分接触蛋白溶液，再加入 3 mL 矿物油覆盖在胶条上，逐步升高电压至 8 kV 进行等电聚焦。

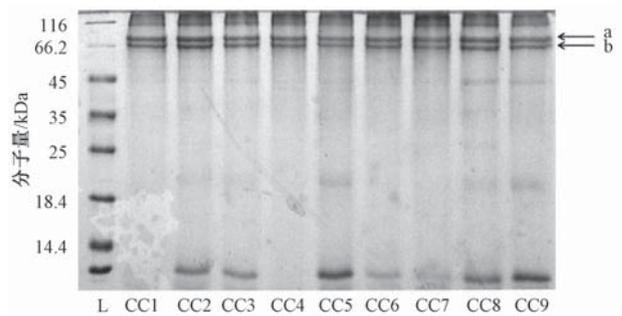
2.2.3 IPG 胶条平衡与 SDS-PAGE 电泳 IEF 结束后取出 IPG 胶条，超纯水洗净，将胶条放入 5 mL 平衡液 (含 0.05 g DTT、0.625 g 碘代乙酰胺) 中，振摇 15 min 平衡，重复 2 次，取出胶条，置于 12% 凝胶上，依次采用 5、15 W 进行电泳分离，取出凝胶，采用考马斯亮蓝染色法进行染色。

2.3 蛋白质鉴定 切取鹿角与鹿茸目的蛋白质条带，置于离心管中切成小块，加入超纯水洗涤 2 次，加入 50% 乙腈-0.1% TFA 200 μL 洗涤 2 次，再加入 100 μL 乙腈洗涤，离心浓缩仪除去残留溶剂，加入 10.0 mmol/L DTT-25.0 mmol/L NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> 溶液 60 μL，在 37 °C 下孵育 1 h，冷却至室温，弃去溶液，再加入 55.0 mmol/L IAM-25.0 mmol/L NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> 60 μL，涡旋混匀，室温避光放置 45 min，弃去溶液，25.0 mmol/L NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>、50% 乙腈、乙腈各 100 μL 依次洗涤，挥干溶剂，胶条中加入 10 ng/μL 胰蛋白酶溶液 15 μL，室温放置 30 min，再加入 50.0 mmol/L NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>-乙腈 20 μL，混匀后在 37 °C 下孵育过夜，自然冷却至室温后加入超纯水 200 μL，混匀，离心 1 min，吸出上清液，胶条碎片中再加入 50% 乙腈-5% TFA 50 μL 提取 30 min，离心 1 min，吸出上清液，再提取 2 次，合并上清液，离心浓缩仪除去溶剂，在上述多肽片段混合物中加入 80% 乙腈-0.1% TFA 20 μL 复溶，吸取 0.5 μL 供试品溶液点样于 MALDI 分析板，并加入 α-CHCA 基质溶液 0.5 μL

迅速混匀，室温干燥后采用 MALDI-TOF/TOF-MS 分析。阳离子模式，线性；扫描次数 500；激光频率 1 000 Hz；离子源 1 电压 25.01 kV；离子源 2 电压 22.51 kV；透镜电压 7.29 kV；脉冲离子提取时间 150 ns；基质抑制偏离；抑制值 600 Da；质量范围 1 000~5 000 Da，所得质谱数据采用 MASCOT 进行分析。

## 3 结果

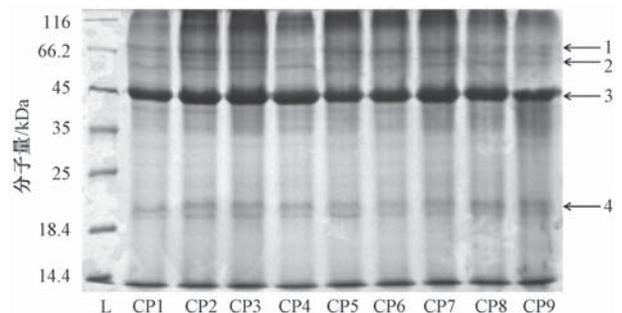
3.1 SDS-PAGE 图 1~2 显示，鹿角与鹿茸在 14.4~116 kD 之间均呈现数个清晰的蛋白质条带，两者 SDS-PAGE 图谱存在较明显差异，并且鹿茸蛋白质条带数量多于鹿角；鹿角中蛋白质条带较少，9 批样品中稳定出现 2 个清晰的蛋白质条带，分别位于约 75 kD (条带 a)、66.2 kD (条带 b)；9 批鹿茸片均出现 4 个蛋白质条带，分别位于约 75 kD (条带 1)、61 kD (条带 2)、45 kD (条带 3)；20 kD (条带 4)；两者稳定存在差异性蛋白质条带为条带 b、条带 2、条带 3 和条带 4)。



注：CC1~CC9 为鹿角片，L 为蛋白质对照。

图 1 鹿角的典型 SDS-PAGE 蛋白质谱

Fig. 1 Typical SDS-PAGE protein profile of *Cervi Cornu*



注：CP1~CP9 为鹿茸片，L 为蛋白质对照。

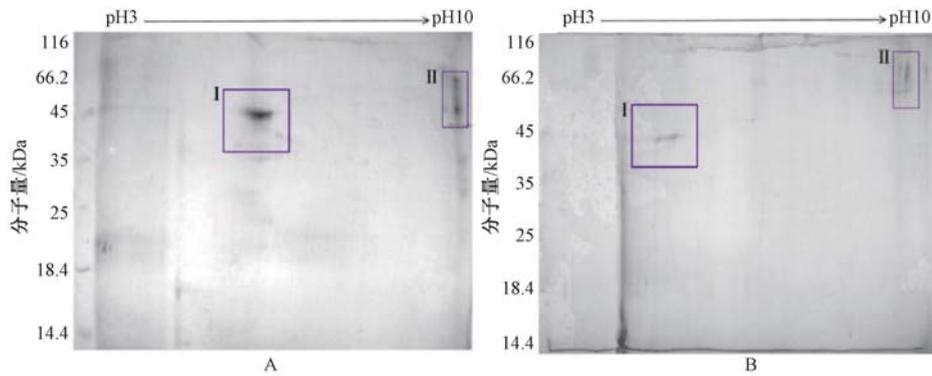
图 2 鹿茸的典型 SDS-PAGE 蛋白质图谱

Fig. 2 Typical SDS-PAGE protein profile of *Cervi Cornu Pantotrichum*

3.2 2-DE 图 3~4 显示，鹿角蛋白质斑点大多在 I 区 (pH5~7, M<sub>w</sub> 45 kD)、II 区 (pH10, M<sub>w</sub> 66.2 kD)，而在 45~70 kD 之间少有分布；鹿茸蛋

白质斑点则密集分布于Ⅲ区 (pH5~7,  $M_w$  45 kD), 并在 pH5~6、 $M_w$  20 kD 的区域内存在 3 个稳定出现的蛋白质斑点 1~3。综上所述, 鹿角与鹿茸的 2-

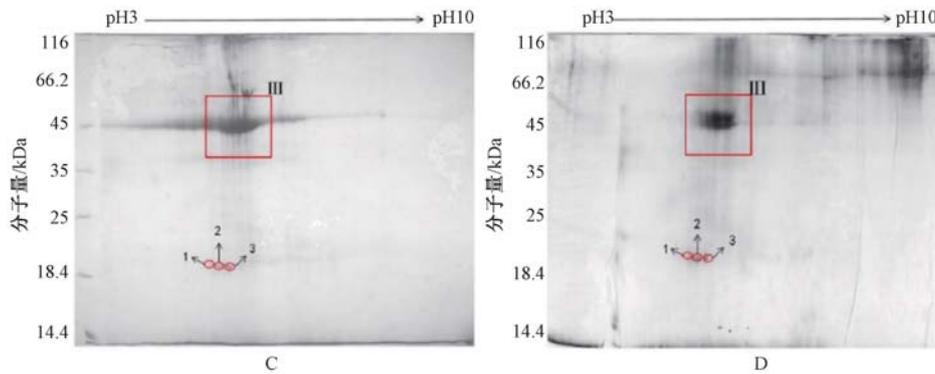
DE 蛋白质图谱存在较大差异, 其蛋白质斑点分布具有明显特征。



注: A 为鹿角 CC1, B 为鹿角 CC2。

图 3 鹿角的典型 2-DE 蛋白质图谱

Fig. 3 Typical 2-DE protein profile of *Cervi Cornu*



注: C 为鹿茸 CP2, D 为鹿茸 CP7。

图 4 鹿茸的典型 2-DE 蛋白质图谱

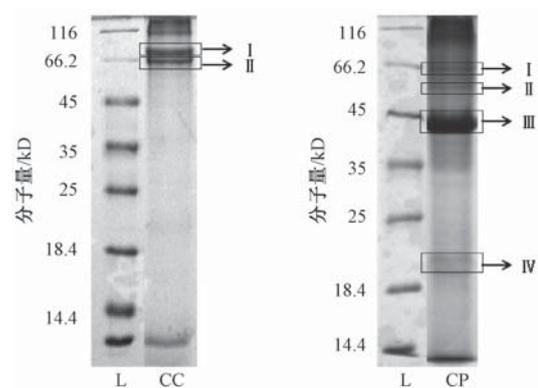
Fig. 4 Typical 2-DE protein profile of *Cervi Cornu Pantotrichum*

3.3 蛋白质物质谱鉴定 鹿角与鹿茸蛋白质 SDS-PAGE 条带见图 5, 可知分别划分为 2 个 (CC-I、CC-II) 和 4 个 (CP-I、CP-II、CP-III、CP-IV) 区域。

图 6 显示, 鹿角与鹿茸蛋白质条带经胰蛋白酶胶内消化后所得肽段的  $m/z$  主要分布于 1 000 ~ 3 000, MASCOT 检索结果见表 2, 可知分别从两者中鉴定出 2、4 个蛋白质。其中, 从鹿茸蛋白质条带 CP-II、CP-III 中分别鉴定出源于马鹿的白蛋白 (ALB)、马鹿假定蛋白 hypothetical protein Celaphus\_00009169, partial, 并且评分高于 100, 可信度较高。

#### 4 讨论

动物药应用历史悠久, 一直受到医药学家和政府部门的重视, 是中药体系的重要组成部分。大多数动物药的鉴定技术为性状鉴定和显微鉴定, 这两



注: CC 为鹿角, CP 为鹿茸, L 为蛋白质对照。

图 5 鹿角与鹿茸 SDS-PAGE 切割条带

Fig. 5 Protein bands cut from SDS-PAGE of *Cervi Cornu* and *Cervi Cornu Pantotrichum*

种方法要求供试品或为完整的药材、饮片, 或具有特定的微观或宏观的可视特征, 因此难以作为识别

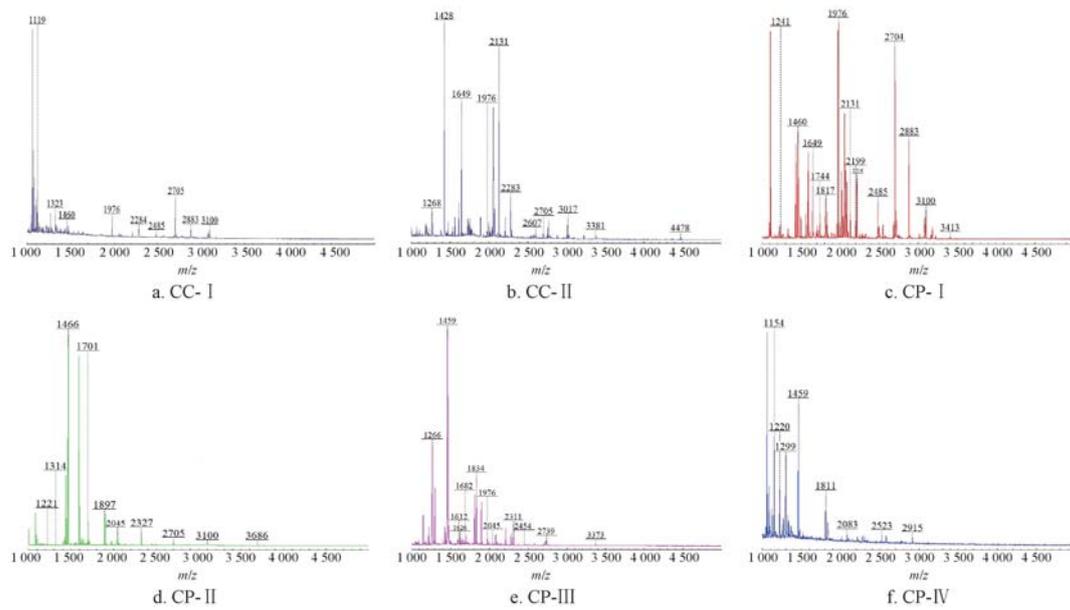


图6 鹿角与鹿茸中蛋白质的多肽 MALDI-TOF-MS 质谱图

Fig. 6 MALDI-TOF-MS spectra of peptide fragments from *Cervi Cornu* and *Cervi Cornu Pantotrichum* proteins

表2 鹿角与鹿茸蛋白质鉴定结果

Tab. 2 Results for protein identification of *Cervi Cornu* and *Cervi Cornu Pantotrichum*

编号	蛋白质	生物分类	分子量/Da	pI	评分	肽段覆盖率/%
CC- I	cytochrome c family protein	<i>Mesorhizobium</i> sp. ICMP 18942	13 519	7. 82	68	66
CC- II	hypothetical protein BZY88_15490	SAR202 cluster bacterium Io17-Chloro-G9	53 754	4. 82	75	36
CP- I	hypothetical protein SAMN04487980_1008270	<i>Streptomyces</i> sp. cf124	72 920	5. 13	96	29
CP- II	ALB	<i>Cervus elaphus</i> hippelaphus	71 032	5. 91	133	39
CP- III	hypothetical protein Celaphus_00009169, partial	<i>Cervus elaphus</i> hippelaphus	13 129	7. 30	111	82
CP- IV	CoA transferase	<i>Amycolatopsis tolypomycina</i>	40 853	4. 94	73	29

角类中药以及同属近似种等的专属性鉴定手段。本研究以鹿角与鹿茸的蛋白质为研究对象，分别进行 SDS-PAGE 和 2-DE 电泳分析。结果表明鹿角与鹿茸蛋白质的电泳图谱中均存在稳定的蛋白质条带或斑点且具有一定差异，这些差异性蛋白质条带和蛋白质斑点为鹿角与鹿茸的鉴别提供了依据。

近年来利用现代分析技术鉴定动物药的研究不断增加，但主要是检测小分子<sup>[15-16]</sup>；动物药中小分子物质的种类远少于植物药，且特异性差，因此导致多味动物药以同一小分子化合物为指标性成分缺乏专属性。此外，由于特异性高，DNA 分子鉴定发展迅速，是黄璐琦院士提出并发展的“分子生药学”的重要组成部分<sup>[17]</sup>。鹿角与鹿茸为不同采收时间所得到的鹿的角组织，两者的 DNA 分子具有物种内和个体内同一性，且基因序列相对保守，不易随时间周期或环境变化而发生改变，因而难以根据鹿角与鹿茸的基因差异设计特异性引物以扩增目标片段，或以 DNA 条形码技术区分鹿角与鹿茸。但因鹿角与鹿茸采收时间的差异，蛋白质种

类及含量均会发生改变，即同一物种不同组织中分别具有特异性高的标志蛋白质<sup>[18]</sup>，并且其会稳定表达。因此，相比于位点特异性 PCR 技术等 DNA 分子鉴定方法，以标志蛋白质作为鹿角与鹿茸特征识别物的电泳分析方法则具有其独特之处。

通过对鹿角与鹿茸的蛋白质条带进行胰蛋白酶内消化，利用 MALDI-TOF/TOF-MS 测定多肽片段并结合 MASCOT 搜索匹配，鉴定多种可信度较高的蛋白质。该方法为角类中药的专属性鉴别研究提供了一条新的途径。然而，由于 NCBI、SWISSPROT 等数据库中鹿的蛋白质条目较少，因此匹配出的蛋白质数量不多。在进一步的研究中，可将含量较高的特异性蛋白质以柱层析法进行分离，然后通过液质联用并结合转录组学和生物信息学研究手段<sup>[19-20]</sup>，解析标志蛋白质的结构。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 年版一部 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 335-336.

- [2] 郭晓晗, 程显隆, 李明华, 等. 鹿茸的化学成分及质量控制方法研究进展[J]. 药物分析杂志, 2018, 38(4): 551-565.
- [3] 宋纪伟, 宗颖, 时坤, 等. 鹿茸质量控制体系研究进展[J]. 中药材, 2012, 35(9): 1534-1537.
- [4] 陈毓, 李锋涛, 钱大玮, 等. 马鹿角及梅花鹿角脱盘中无机元素分析与评价[J]. 中成药, 2014, 36(12): 2577-2582.
- [5] 刘松鑫, 宫瑞泽, 王泽帅, 等. 基于主成分分析和判别分析对花鹿茸和马鹿茸9类化学成分对比研究[J]. 中草药, 2021, 52(1): 82-90.
- [6] 王美玉, 梁亚萍, 王愈, 等. 燕麦蛋白组分离提取及其SDS-PAGE电泳分析[J]. 粮油食品科技, 2018, 26(5): 1-5.
- [7] 朱云飞, 初正云, 李洪江. SDS-PAGE凝胶电泳法对不同种鹿茸蛋白质差异研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2017, 19(6): 48-51.
- [8] 黄瑶, 常乐, 张思雯, 等. 电泳技术在鹿茸和鹿角鉴别中的应用[J]. 沈阳药科大学学报, 2017, 34(11): 999-1005.
- [9] 孟楣, 王芳, 王晓玉, 等. 新风胶囊中水溶性蛋白的SDS-PAGE分析方法研究[J]. 中药材, 2014, 37(1): 141-143.
- [10] 吴浩, 彭昕, 张煜炯, 等. 蛋白质电泳指纹图谱在各产地贝母亲缘关系研究中的应用[J]. 中成药, 2015, 37(8): 1757-1761.
- [11] 邱乙, 汪云伟, 程元柳, 等. 基于差异蛋白质鉴别僵蚕及其新型伪品[J]. 吉林中医药, 2014, 34(10): 1024-1026.
- [12] Baskova I P, Kostjukova E S, Vlasova M A, et al. Proteins and peptides of the salivary gland secretion of medicinal leeches *Hirudo verbena*, *H. medicinalis*, and *H. orientalis* [J]. *Biochemistry (Mosc)*, 2008, 73(3): 315-320.
- [13] 陶蓓蕾, 邱德仁, 杨芑原. 蛋白质组学研究中医中药进展和评述[J]. 化学世界, 2011, 52(10): 602; 609; 626-634.
- [14] Lin L, Zhang Y J, Li Y, et al. Identification of signature proteins of processed *Bombyx batryticatus* by comparative proteomic analysis [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 153: 289-296.
- [15] 赵清, 徐月清, 冯天铸, 等. 不同炮制方法对僵蚕指标性成分的含量影响研究[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(3): 657-660.
- [16] 隋利强, 吴追乐, 陈玉鹏. 基于SPME-GC-MS分析探讨炮制对6种动物药挥发性成分的影响[J]. 中药材, 2019, 42(5): 1030-1037.
- [17] 李楠, 虞平添, 焦兆群, 等. 特异性扩增技术鉴定龟甲与鳖甲[J]. 中成药, 2018, 40(10): 2328-2333.
- [18] 刘睿, 赵明, 段金厥. 基于“蛋白质/肽组学-修饰组学”研究动物药功效物质基础的思路与方法[J]. 药学报, 2020, 55(8): 1735-1743.
- [19] 杨彬, 高文远, 张艳军. 基于转录组学-蛋白质组学-多肽组学整合关联分析策略的动物药蛋白多肽类成分研究思路及方法[J]. 中草药, 2019, 50(5): 1033-1038.
- [20] 朱晓泉, 彭维, 吴灏, 等. 基于纳升高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱超高分辨质谱技术研究脑心通胶囊中动物药的蛋白质[J]. 中南药学, 2020, 18(10): 1628-1638.

## 山胡椒、狭叶山胡椒果实的鉴别

潘泽玥, 章蕾, 钟晓明, 黄真\*  
(浙江中医药大学药学院, 浙江 杭州 310053)

**摘要:**目的 建立山胡椒、狭叶山胡椒果实的鉴别方法。方法 采用性状鉴别、显微鉴别、扫描电镜等鉴别方法寻找山胡椒、狭叶山胡椒果实的异同点。结果 获取山胡椒与狭叶山胡椒果实性状、微性状特征及扫描电镜下果顶部花柱残痕、果柄部表面纹饰的影像数据, 两者在外果皮表面性状特征、扫描电镜下外果皮表面纹饰、细胞形态、果柄处纹饰, 显微鉴别中内果皮栅状细胞、石细胞形态有一定区别。结论 山胡椒、狭叶山胡椒果实在表面微性状、显微特征、扫描电镜超微特征方面存在差异。

**关键词:** 山胡椒; 狭叶山胡椒; 果实; 微性状鉴别; 显微鉴别; 扫描电镜

**中图分类号:** R282.5

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1001-1528(2022)06-1864-06

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2022.06.025

收稿日期: 2021-06-25

基金项目: 2018全国中药资源普查(国中医药办科技函[2018]132)

作者简介: 潘泽玥(1998—), 女, 硕士生, 从事中药品质评价和资源开发利用研究。Tel: 18989456106, E-mail: 765750368@qq.com

\*通信作者: 黄真(1963—), 教授, 博士生导师, 从事中药品质评价和资源开发利用研究。Tel: 13605818929, E-mail: huangzhen@zcmu.edu.cn