

基于代谢组学技术分析不同区段鹿茸差异代谢分子物质

孙伟丽, 赵海平, 王雪华, 李光玉*

中国农业科学院特产研究所, 吉林省特种经济动物分子生物学省部共建重点实验室, 吉林 长春 130112

摘要:目的 基于 UPLC-QTOF/MS 代谢组学技术, 鉴定不同区段鹿茸差异代谢小分子物质, 结合组织学形态观察, 分析差异代谢物参与的代谢途径。方法 梅花鹿标准三叉茸冻干处理, 切片观察组织形态学表现, 从上至下分为 3 个区段, 分别为 VAU、VAM 和 VAB, 基于 UPLC-QTOF/MS 技术, 结合主成分分析及最小二乘判别分析方法, 解析鹿茸不同区段之间的差异代谢物。结果 共鉴定出鹿茸中代谢小分子物质 124 种, 基于差异代谢物中差异倍数(FC)数值高于 2.2 进一步筛选出在鹿茸不同区段相对含量差异较大的 16 种物质, 分别对比了不同区段中各物质的相对含量。结论 基于非靶向代谢组学分析冻干鹿茸代谢小分子物质组成, 通过相邻分区比较发现, 各分区之间内源性代谢物有一定差异, 为揭示其功能提供了数据支持。

关键词: 代谢组学; 不同区段; 鹿茸; 差异代谢物; UPLC-QTOF/MS

中图分类号: R286.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)20-5047-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.20.029

Analysis on differential metabolites of *Cervi Cornu Pantotrichum* based on metabolomics

SUN Wei-li, ZHAO Hai-ping, WANG Xue-hua, LI Guang-yu

Jilin Key Laboratory of Molecular Biology of Special Economic Animals, Institute of Special Animal and Plant of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130112, China

Abstract: **Objective** To identify the differential metabolic small molecule substances in *Cervi Cornu Pantotrichum* (CCP) of different segments based on UPLC-QTOF/MS metabolomics technology, and analyze the metabolic pathways involved by differential metabolites combined with histological observation. **Methods** The standard trident antler of sika deer (*Cervus nippon*) were treated by freeze-drying. The tissue morphology was observed by section. The tissue morphology was divided into three sections from top to bottom, VAU, VAM, and VAB. The differential metabolites were analyzed by UPLC-QTOF/MS technology, principal component analysis, and least squares discriminant analysis. **Results** A total of 124 kinds of metabolic small molecular substances were identified in CCP. Based on the FC value of differential metabolites higher than 2.2, 16 substances with different relative contents in different parts of CCP were further screened, and the relative content of each substance in different parts were compared. **Conclusion** This experiment is based on non-targeted metabolomics to analyze the composition of metabolic small molecules in freeze-dried CCP. By comparing the adjacent zones, it is found that there are some differences in endogenous metabolites among the zones, which provides data support for revealing their functions.

Key words: metabolomics; different sections; *Cervi Cornu Pantotrichum* (CCP); differential metabolites; UPLC-QTOF/MS

代谢组学是一门新兴的组学技术, 与基因组学和蛋白质组学相比, 代谢组学反映的是机体代谢终端小分子物质的组成和特点, 整体上分析小分子物质的组成和特征规律。由于基因组和蛋白质的微小变化在代谢终产物上都会呈现数十倍变化, 有利于使用仪器精确检测分析。代谢组学逐渐被广泛应用

于中药研究领域, 如分析含药血清代谢物组成, 生物标志物挖掘, 药动学研究, 结合网络药理学确定中药的潜在作用靶点等。超高压液相色谱-质谱联用技术已经广泛应用于中药化学成分的检测和鉴定等领域^[1]。可以通过将 LC-MS 扫描的碎片离子信息和化合物裂解规律与对照品对照或者参考文献比对来

收稿日期: 2019-06-03

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2018YFC1706602); 吉林省科技发展计划项目 (20190304006YY)

作者简介: 孙伟丽 (1982—), 女, 黑龙江牡丹江人, 研究方向特种经济动物营养与产品开发利用。E-mail: sunweili@caas.cn

*通信作者 李光玉 (1971—), 男, 湖北应城人, 博士, 研究员, 主要从事特种经济动物营养研究。E-mail: tcslgy@126.com

分析中药中的化学成分^[2]。超高压液相色谱-飞行时间质谱 (UPLC-Q-TOF-MS) 技术有很多优势, 灵敏度和分辨率较高, 测试时间短, 能对样品含有的代谢分子组成进行定性定量等整体分析^[3]。

鹿茸为鹿科动物未骨化密生茸毛的幼角, 从中药角度来说, 鹿茸特指的是雄性梅花鹿 *Cervus nippon* Temminck 或马鹿 *C. elaphus* Linnaeus 的幼角, 是我国传统中药材, 已有 2 000 多年的入药历史。中医认为, 鹿茸是滋补强壮和生精益血之药, 在中医临床上占有重要地位, 本草纲目记载鹿茸具有生精补髓、养血益阳、强筋健骨的功效。鹿茸自上而下分为 4 个区段, 即蜡片区、粉片区、蜂片区和骨片区, 不同区段的价格和效用差距较大, 市场上蜡片的价格比骨片高上百倍。如蜡片在促进伤口愈合方面效果较好, 而骨片在治疗慢性乳腺炎方面效果要好于其他区段; 鹿茸作为原材料, 对其合理严格的分区能够促进鹿茸精细化利用。与化学药相比, 中药药效成分更加复杂多样化, 通常是几种成分共同作用发挥特定功效, 因此主成分分析 (PCA) 等多元统计对中药材质量评价发挥着重要的作用^[4]。针对研究中出现的多个变量指标以及存在着一定相关性的数据进行分析, 挖掘隐藏的规律, 从而对中药质量进行有效评价。本实验采用 UPLC-QTOF/MS 代谢组学技术鉴定梅花鹿鹿茸不同区段小分子物质, 分析差异代谢物, 揭示鹿茸骨质沉积能力的物质基础, 为鹿茸有效成分鉴定和精细化利用提供数据参考^[5]。

1 材料与仪器

1.1 材料

5 锯龄梅花鹿标准三叉茸 10 支, 于中国农业科学院特产研究所茸鹿养殖基地收割, 锯茸后切片, 依据鹿茸分区标准, 划分为蜡片、粉片、蜂片和骨片。其中蜡片含量少, 将蜡片和粉片混合均匀为 VAU 组, 蜂片区为 VAM, 骨片区为 VAB, 每组 10 个重复。每个样品均放置于 -80 °C 冰箱中冷冻 24 h, 再经冻干机冻干 24 h, 得到冻干产物再进行超微粉碎, 过 80 目筛, 得到鹿茸超微粉备用, 样品标号信息见表 1。

1.2 仪器

色谱级甲醇 (Honeywell, 美国); 色谱级乙腈 (Merck KgaA, Darmstadt, 德国); 色谱级甲酸 (Fisher Scientific); 磷酸缓冲液 (PBS); 5430R 型高速低温离心机 (Eppendorf, 美国); 超高压液相色谱仪 (Agilent, 美国); 质谱仪 Triple TOF 5600 (AB

表 1 样品标号信息

Table 1 Information of samples

鹿茸样品编号	上段	中段	下段
1	VAU1	VAM1	VAB1
2	VAU2	VAM2	VAB2
3	VAU3	VAM3	VAB3
4	VAU4	VAM4	VAB4
5	VAU5	VAM5	VAB5
6	VAU6	VAM6	VAB6
7	VAU7	VAM7	VAB7
8	VAU8	VAM8	VAB8
9	VAU9	VAM9	VAB9
10	VAU10	VAM10	VAB10

SCIEX, 美国); 切片机 (国产); 冻干机 (国产)。

2 方法

2.1 样品预处理

称取鹿茸组织 (20.7 ± 0.1) mg 加到 500 μ L 预冷的 80% 水、甲醇溶液混匀, 旋涡 10 s, 超声波处理 7 次, 每次 1 min, 间隔 1 min。低温保存 2 h 后, 14 000 r/min, 4 °C 条件下离心 15 min。转移 400 μ L 上清液至离心管。残渣利用上述步骤重复操作, 将 2 次提取液中的上清液混合, 用于后续分析。从各组组织样品选取质量控制 (QC) 样品, 按照与实验样品相同的程序进行制备和分析。

2.2 UPLC-QTOF-MS 分析条件

2.2.1 色谱条件 安捷伦公司超高压液相色谱系统, 色谱柱为 Waters 公司的 Acquity UPLC HSS T3 column (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7 μ m), 柱温 40 °C, 体积流量 0.3 mL/min, 进样量 5 μ L。流动相为 0.1% 甲酸水溶液 (A)-乙腈 (B), 洗脱程序为 0~1.5 min, 1% B; 1.5~13.0 min, 99% B, 13.0~16.5 min, 99% B; 16.6~20.0 min, 1% B。检测波长 210~400 nm。

2.2.2 质谱条件 分别采用正离子和负离子模式检测。离子源温度为 600 °C, 喷雾电压为 ± 5 500 V, 雾化器压力 60 kPa, 气帘气压力 60 kPa, 辅助气压力 60 kPa, 质量扫描范围: m/z 60~1 000, 扫描时间 0.2 s。二级质谱采用数据非依赖采集 (IDA) 获得, 并且采用 high sensitivity 模式, 去簇电压 ± 60 V, 碰撞能量 (35 ± 15) eV。

2.3 UPLC-QTOF-MS 数据预处理

UPLC-QTOF-MS 的原始数据首先由 ProtoWizard 转换成 mzXML 格式, 然后 R 软件平台上进行处理。在 XCMS 包中峰选择, 最终数据导出为峰值表文件, 包括观测值 (样本名称)、变量 (rt_mz) 和峰值丰度。在进行单变量和多变量统计之前, 将数据与总峰丰度进行归一化。

2.4 统计分析和差异代谢物的识别

多变量统计分析, 将归一化处理后的标准化数据, 导入到 SIMCA 软件 (Umetrics, Sweden Version 13.0), 进行 PCA、偏最小二乘法-判别分析 (PLS-DA) 和正交偏最小二乘法-判别分析 (OPLS-DA)。

3 结果与分析

3.1 不同区段鹿茸代谢小分子物质的鉴定

UPLC-QTOF-MS 获得的原始数据经 XCMS 软件做峰寻找、峰对齐、峰过滤等数据处理, 保证数据的完整性, 研究采用了正、负 2 种离子扫描模式, 共鉴定到 124 种化合物。具有代表性的鹿茸上、中、下 3 区段 (VAU、VAM、VAB) 样品, UPLC-ESI-HRMSⁿ 基峰离子流图 (BPI) 如图 1 所示, 直观显示其不同部位的化学成分之间存在明显差异。

3.2 总体样本 PCA

正离子模式下, 建立含 3 个有效主成分的 PCA

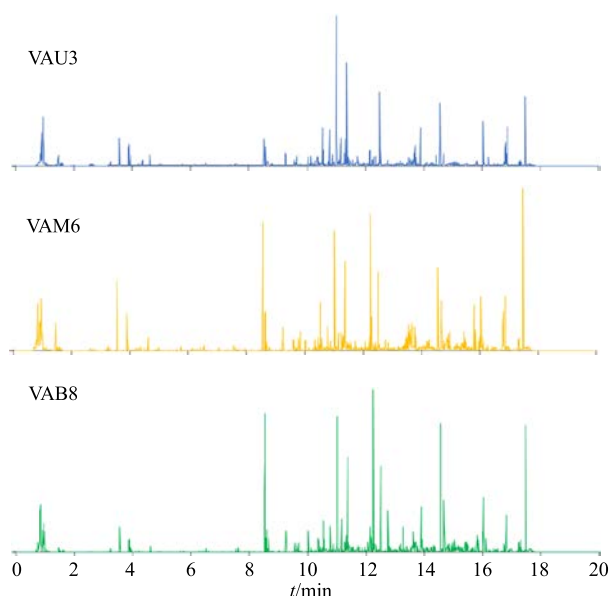


图 1 各组代表性样本的 BPI (ESI⁺)

Fig. 1 BPI map (ESI⁺) of representative sample

模型, 模型累积解释率 (R^2_X) 为 0.693; 在负离子模式下, 建立含 3 个有效主成分的 PCA 模型, R^2_X 为 0.745。 R^2_X 是在 PCA 时决定模型的重要参数, 其表示该模型是否适合于表达组间差异。一般 R^2_X 值大于 0.5 代表该模型可靠, P 值越小表示模型差异越好, 模型评估指标 (R^2_Y) 值越接近于 1, 模型越适合于解释两组间的差异。本实验正、负离子条件下, 模型质量能较好表示样本之间的代谢差异。PCA 得分图见图 2。该结果表明, VAU 组、VAM 组和 VAB 组分布在不同的区域, 说明 3 组代谢物之间存在明显的差异性。

3.3 PLS-DA

3.3.1 VAU 组与 VAM 组 PLS-DA 用 PLS-DA 对 VAU 组与 VAM 组进行模型分析。PLS-DA 模型正离子模式下参数 R^2_X 、 R^2_Y 、 Q^2 、 P 值分别为 0.707、0.995、0.936、 6.299×10^{-5} ; 负离子模式下参数 R^2_X 、 R^2_Y 、 Q^2 、 P 值分别为 0.784、0.990、0.897、 1.113×10^{-4} 。得分图如图 3 所示, 结果表明, VAU 组与 VAM 组分布在 2 个不同的区域, 因此当前建立的 PLS-DA 模型揭示了 VAU 组与 VAM 组之间存在明显的代谢差异。

3.3.2 VAU 组和 VAB 组的 PLS-DA 正、负离子模式下, 各建立 3 个有效主成分的 PLS-DA 模型, 正离子模式下参数 R^2_X 、 R^2_Y 、 Q^2 、 P 值分别为 0.737、0.994、0.970、 1.997×10^{-8} ; 负离子模式下参数 R^2_X 、 R^2_Y 、 Q^2 、 P 值分别为 0.759、0.990、0.949、 2.828×10^{-7} 。得分图见图 4, 从 PLS-DA 得分图可以看出, VAU 组与 VAB 组分布在 2 个不同的区域, 因此当前建立的 PLS-DA 模型揭示了 VAU 组与 VAB 组之间存在明显的代谢差异。

3.3.3 VAM 组和 VAB 组 PLS-DA 正、负离子模式下, 各建立 3 个有效主成分的 PLS-DA 模型, 得分图见图 5。正离子模式参数 R^2_X 、 R^2_Y 、 Q^2 、 P 值

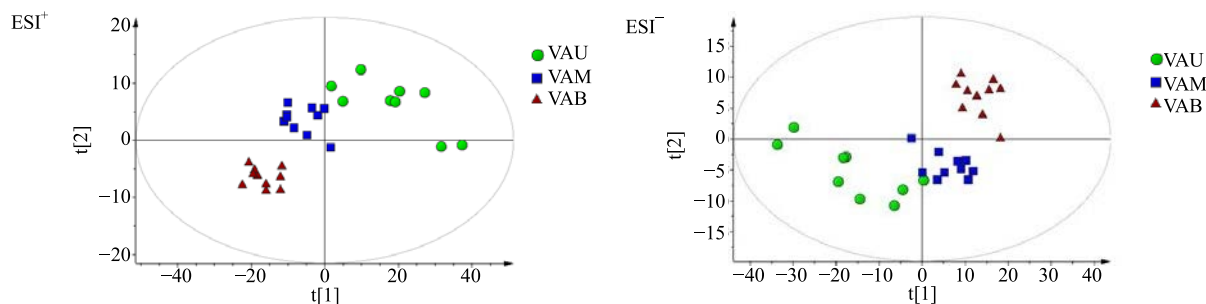


图 2 所有组样本 PCA 得分图

Fig. 2 PCA score plot of all samples

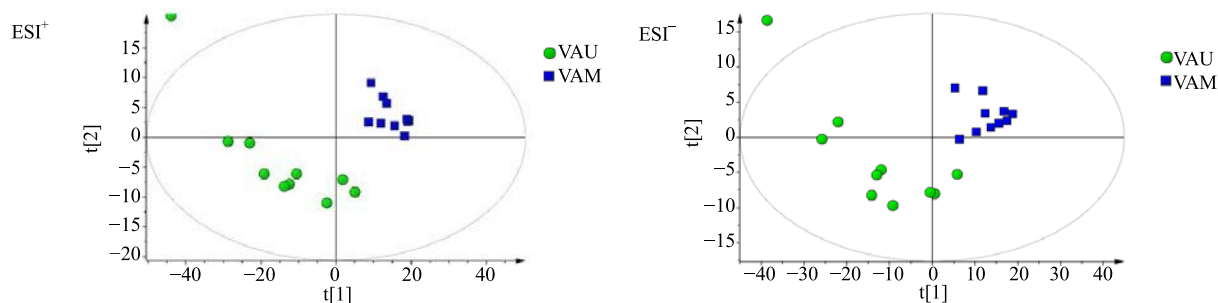


图 3 VAU 组与 VAM 组 PLS-DA 得分图

Fig. 3 Score plot of PLS-DA in VAU and VAM groups

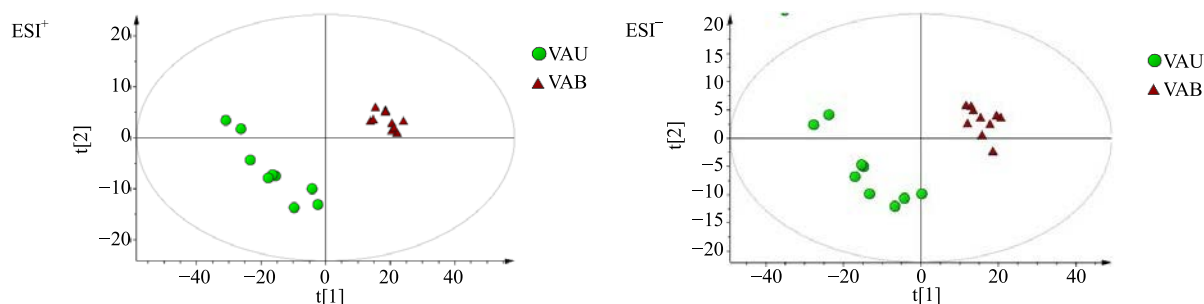


图 4 VAU 组与 VAB 组 PLS-DA 得分图

Fig. 4 Score plot of PLS-DA in VAU and VAB groups

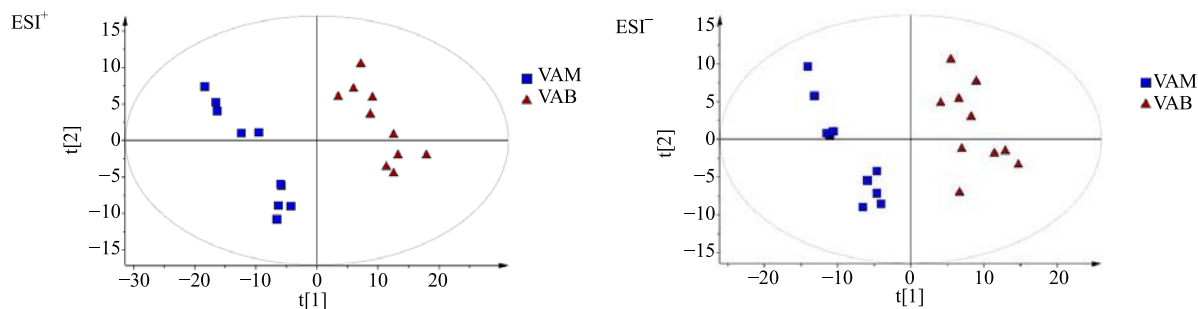


图 5 VAM 组与 VAB 组 PLS-DA 得分图

Fig. 5 Score plot of PLS-DA in VAM and VAB groups

分别为 0.430、0.967、0.858、 $3.320\ 22 \times 10^{-6}$ ；负离子参数 R^2_X 、 R^2_Y 、 Q^2 、 P 值分别为 0.487、0.941、0.876、 $1.661\ 13 \times 10^{-6}$ 。从 PLS-DA 得分图可以看出，VAM 组与 VAB 组分布在 2 个不同的区域，因此当前建立的 PLS-DA 模型揭示了 VAM 组与 VAB 组之间存在明显的代谢差异。

3.4 OPLS-DA

3.4.1 VAU 组与 VAM 组 OPLS-DA 正离子模式下参数 R^2_X 、 R^2_Y 、 Q^2 、 P 值分别为 0.707、0.995、0.908、 $2.476\ 01 \times 10^{-5}$ ；负离子模式下参数 R^2_X 、 R^2_Y 、 Q^2 、 P 值分别为 0.817、0.998、0.894、 $2.239\ 06 \times 10^{-4}$ 。得分图见图 6，表明当前模型可对 VAU 组与 VAM

组 2 组样本存在明显的代谢差异。

3.4.2 VAU 组与 VAB 组 OPLS-DA 正离子模式下参数 R^2_X 、 R^2_Y 、 Q^2 、 P 值分别为 0.737、0.994、0.965、 $9.963\ 28 \times 10^{-9}$ ；负离子模式下参数 R^2_X 、 R^2_Y 、 Q^2 、 P 值分别为 0.798、0.996、0.958、 $2.597\ 39 \times 10^{-7}$ 。得分图见图 7，表明当前模型可对 VAU 组与 VAB 组 2 组样本存在明显的代谢差异。

3.4.3 VAM 组与 VAB 组 OPLS-DA 正离子模式下参数 R^2_X 、 R^2_Y 、 Q^2 、 P 值分别为 0.430、0.967、0.863、 $2.457\ 10 \times 10^{-6}$ ；负离子模式参数 R^2_X 、 R^2_Y 、 Q^2 、 P 值分别为 0.547、0.977、0.897、 $1.661\ 13 \times 10^{-6}$ 。得分图见图 8，表明当前模型可对 VAM 组与 VAB 组

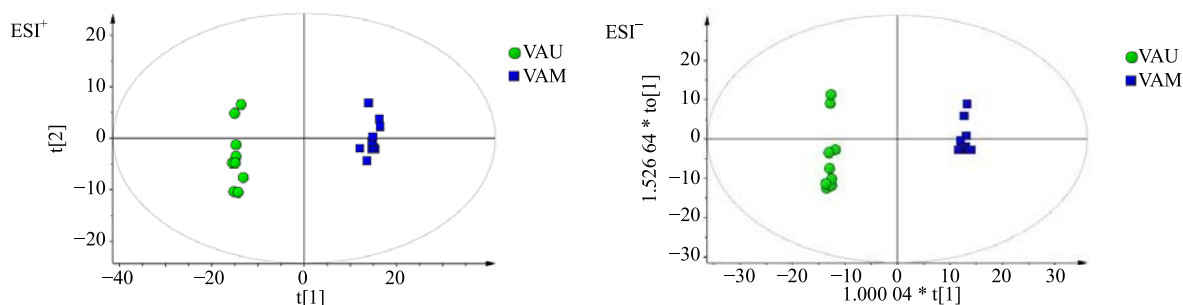


图 6 VAU 组与 VAM 组 OPLS-DA 得分图

Fig. 6 Score plot of OPLS-DA in VAU and VAM groups

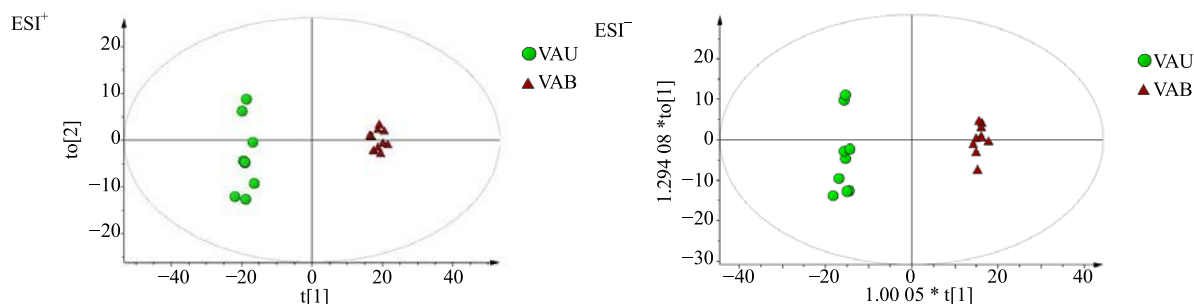


图 7 VAU 组与 VAB 组 OPLS-DA 得分图

Fig. 7 Score plot of OPLS-DA in VAU and VAB groups

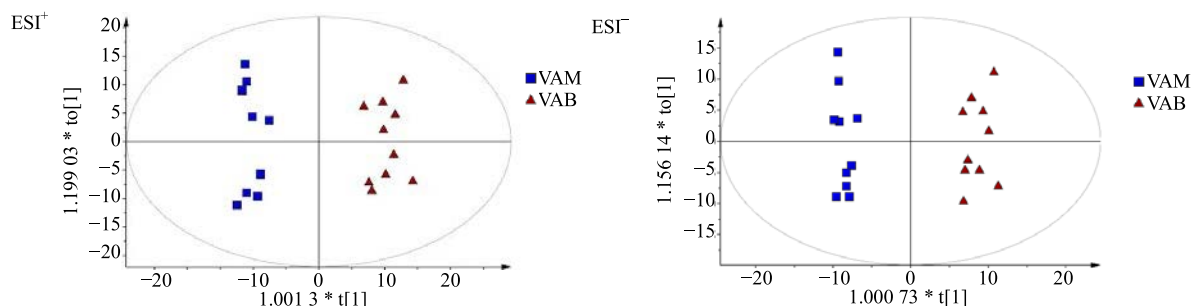


图 8 VAM 组与 VAB 组 OPLS-DA 得分图

Fig. 8 Score plot of OPLS-DA in VAM and VAB groups

2 组样本存在明显的代谢差异。

3.5 差异代谢物筛选

由于过滤掉了与模型分类无关的噪音信号（正交信号校正），因此 OPLS-DA 非常适合于获得与分类相关的差异性物质。本实验采用单维检验的 P 值，并参考 OPLS-DA 模型的差异贡献值（VIP）来寻找差异性表达代谢物。一般来说 $P < 0.05$ 并且 $VIP > 1$ 的代谢物有显著差异。本研究采用此标准分析不同区段差异代谢物，VAU 和 VAM 之间鉴定出差异代谢物 76 种，且各物质相对浓度均为 VAU 高于 VAM；VAM 和 VAB 之间鉴定出差异代谢物 84 种，各物质相对浓度 VAM 高于 VAB；VAU 和 VAB 之间鉴定出差异代谢物 70 种，其中 10 种物质相对浓度在 VAM 中低于

VAB 组。基于差异代谢物中 FC 数值高于 2.2 进一步筛选出在鹿茸不同区段相对含量差异较大的 16 种物质，分别对比了不同组别中的相对含量，见表 2。

3.6 不同区段鹿茸组织学形态

不同区段鹿茸横向切片的形态见图 9。干茸的颜色从蜡片、粉片、蜂片和骨片颜色有差别。鹿茸尖部的切片主要为皮肤、间充质区、前软骨区，该区域不含血管，茸片内部（除皮肤）为均质蜡状，为蜡片，该区域为鹿茸的蜡片区。干茸蜡片褐色。沿长轴往基部的鹿茸片，逐渐出现血管，血管从鹿茸片的中心部位开始出现，随后的切片中，逐渐扩展到整个鹿茸片。随后的区段的鹿茸片，血管均匀分布（皮肤除外），血管粗细几乎一致，为粉片，该区域鹿茸片颜色为粉

表 2 主要差异代谢物信息
Table 2 Major differential metabolites

序号	化学名称	中文名称	<i>P</i>	VIP	倍数 FC
1	<i>DL</i> -3-aminoisobutyric acid	3-氨基异丁酸	0.000 004 641 7	1.34	2.85
2	<i>L</i> -glutamic acid	<i>L</i> -谷氨酸	0.000 004 324 6	1.36	2.91
3	glutamic acid	谷氨酸	0.000 012 822 0	1.44	2.93
4	betaine	甜菜碱	0.004 931 201 1	1.37	2.14
5	methionine	甲硫氨酸	0.000 026 116 6	1.35	2.20
6	tyrosine	酪氨酸	0.000 010 825 1	1.44	2.28
7	leucine	亮氨酸	0.000 004 824 5	1.49	2.32
8	<i>L</i> -phenylalanine	<i>L</i> -苯丙氨酸	0.000 010 825 1	1.40	2.21
9	pantothenate	泛酸	0.000 010 825 1	1.42	2.22
10	5'- <i>S</i> -methylthioadenosine	甲硫腺苷	0.001 223 066 4	1.47	2.76
11	LysoPC 16 : 1 peak1	溶血磷脂酰胆碱(峰 1)	0.002 051 084 3	1.83	2.48
12	LysoPC 16 : 1 peak2	溶血磷脂酰胆碱(峰 1)	0.002 739 465 4	1.86	2.52
13	LysoPG 18 : 1	溶血磷脂酰甘油	0.000 022 347 6	1.73	2.31
14	2-hydroxyhexadecanoic acid	2-羟基十六烷酸	0.006 841 455 8	2.31	2.92
15	LysoPC 17 : 1	溶血磷脂酰胆碱	0.000 978 430 7	1.64	2.12
16	2-hydroxy-nonadecanoic acid	二羟基十九烷酸	0.004 096 740 4	1.57	2.33
17	LysoPC 22 : 3	溶血磷脂酰胆碱	0.000 010 825 1	1.91	2.65
18	FA 21 : 3	脂肪酸类	0.000 163 967 6	1.62	2.26

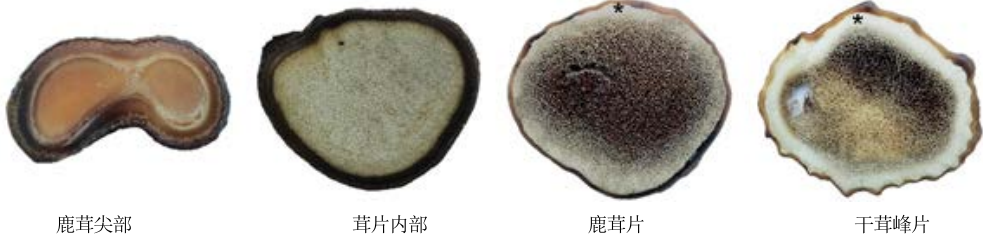


图 9 不同区段鹿茸横切组织学形态

Fig. 9 Histological morphology of CCP in different sections

红色，干茸片颜色比鲜鹿茸片稍深。之后是鹿茸的峰片区，峰片的典型特点为中央的管粗，呈蜂窝状，周围血管细，类似密质骨。干茸峰片为褐色。下面的峰片周围开始出现密质骨，当茸片周围的密质骨连成圈，出现完整的骨环时，进入鹿茸的骨片区。骨片区最典型的特点是完整骨环的出现，茸片中心区域由于蜂窝状管的持续增粗，管与管之间开始融合，形成连续的空腔，干茸片中央为灰褐色^[6-8]。

4 讨论

本研究基于非靶向代谢组学技术，在正离子和负离子模式下总计鉴定到 214 个代谢小分子物质，主要是氨基酸类、脂肪酸类、泛酸、溶血磷脂酰类以及亚麻酸等^[9]。通过限定条件筛选含量差异较大的 16 种差异代谢物，分析差异高表达的代谢物变化趋势，并结合 KEGG 代谢通路分析鹿茸不同区段主要差异代谢物参与的代谢途径。

必需氨基酸是指人体不能合成或合成速度远不能满足机体需要，需由食物蛋白供给的氨基酸。王燕华等^[10]检测到鹿茸中含有 17 种氨基酸，其中

冻干茸蜡片、粉片和蜂片氨基酸含量分别是 58.09%、47.23%、47.37%，从上端到下端依次降低的趋势，且含量差异极显著 ($P<0.01$)。检测到鹿茸中含有 Lys、Phe、Met、Thr、Ile、Leu、Val 7 种人体必需氨基酸，发现鹿茸中 Gly、Arg 和 Glu 含量较高，鹿茸富含胶原蛋白，水解产物以 Gly 为主。本实验结果发现三叉鹿茸不同区段差异较大的氨基酸主要是谷氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸和亮氨酸。此外结果表明，三甲基甘氨酸俗称甜菜碱在鹿茸中含量较高，从尖部到底部逐渐减少，三甲基甘氨酸在动物机体内提供甲基，与蛋白代谢途径和脂肪代谢途径密切相关。有研究报道甜菜碱对动物模型肝硬化、肾损伤以及心肌炎有积极作用^[11-13]。

鹿茸里含有丰富的脂肪酸磷脂类物质和溶血磷脂酰类物质。饱和脂肪酸主要是棕榈酸和硬脂酸，单不饱和脂肪酸主要是油酸，多不饱和脂肪酸主要是亚油酸、花生四烯酸、亚麻酸。王燕华等^[10]报道冻干茸蜡片、粉片、蜂片的脂肪酸分别为 9.46、7.54、6.23 g/kg，且从上至下逐渐降低。研究发现

亚油酸、花生四烯酸、油酸和棕榈烯酸在梅花鹿三叉茸中含量比较高。本实验检测到鹿茸中含有大量的磷脂酰类物质,有磷脂酰胆碱、磷脂酰甘油和磷脂酰乙醇胺等。很多研究指出磷脂可以辅助疾病治疗,如激活自然杀伤细胞活性、减轻药物对肠道刺激等有助于身体健康^[14]。核苷酸是生物体内一种极其重要的小分子化合物,参与许多重要的生理、生化功能。有报道从不同加工方式的梅花鹿鹿茸中检测到13种核苷类成分,分析它们在不同部位的含量,结果表明,10种核苷含量从顶端到基部逐渐降低,尿苷和鸟苷在各部位分布较为均匀,而2'-脱氧尿苷无明显分布规律^[15]。尿嘧啶和次黄嘌呤在上、中、下区段中都有表达,次黄嘌呤和尿嘧啶也是从上到下呈现递减趋势,这与鹿茸从上段至下段有机物含量逐渐降低是一致的。补充核苷酸可以促进动物的生长发育,肌苷能发挥抗抑郁的效果,嘌呤核苷酸可以起到保护神经促进神经再生作用^[16]。糖类是所有机体维持生命活动的能量来源,包括单糖、双糖和多糖。多糖在鹿茸中的功效得到了很多关注,认为多糖与鹿茸的抗氧化、提高机体免疫力、提高记忆力等功效直接相关。有研究报道鹿茸抗骨质疏松作用的有效物质是鹿茸I型胶原蛋白以及多肽类物质^[17]。鹿茸促进骨质沉积,抗骨质疏松的有效成分及机制还需进一步深入研究。

综上所述,鹿茸所含活性物质的含量和种类可能与鹿种及鹿茸的采集时间、部位、加工炮制方式有关。本实验基于非靶向代谢组学分析冻干鹿茸代谢小分子物质组成,通过相邻分区比较发现,各分区之间内源性代谢物有一定差异,为揭示鹿茸功能提供了基础数据。

参考文献

- [14] 李银清. 梅花鹿鹿茸胶原酶解物的制备及活性研究 [D]. 长春: 长春中医药大学, 2010.
- [15] 王媛, 袁磊, 李遇伯, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 的淫羊藿化学成分分析 [J]. 中草药, 2017, 48(13): 2625-2631.
- [16] Wen H, Jeon B, Moon S, *et al.* Differentiation of antlers from deer on different feeds using an NMR-based metabolomics approach [J]. *Archives Pharm Res*, 2010, 33(8): 1227-1234.
- [17] 赵文娟. 中药质量控制与多元评价新模式的应用 [J]. 亚太传统医药, 2014, 10(17): 131-132.
- [18] Tseng S H, Sung C H, Chen L G, *et al.* Comparison of chemical compositions and osteoprotective effects of different sections of velvet antler [J]. *J Ethnopharm*, 2014, 151(1): 352-360.
- [19] 刘佳, 赵海平, 杨万云, 等. 梅花鹿和马鹿鹿茸尖部与基部水溶性成分含量测定 [J]. 时珍国医国药, 2017, 28(3): 567-569.
- [20] 刘佳, 赵海平, 李春义. 鹿茸成分研究进展 [J]. 特产研究, 2016, 38(4): 50-54.
- [21] 雒伟伟, 赵海平, 齐晓妍, 等. 鹿茸药材鉴定和质量控制的研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(21): 4110-4114.
- [22] 刘佳, 赵海平, 张伟, 等. 鹿茸水溶性与脂溶性成分提取方法的优化及含量分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(15): 65-69.
- [23] 王燕华, 金春爱, 孙印石, 等. 不同加工方式的鹿茸脂肪酸的气相色谱分析 [J]. 中草药, 2017, 48(12): 2431-2441.
- [24] 贺绍君, 李静, 刘德义, 等. 甜菜碱对热应激肉鸡肝肾肾功能损伤的缓解作用 [J]. 安徽科技学院学报, 2017, 31(2): 1-5.
- [25] 毛福英, 袁娅妮, 王骁, 等. 甜菜碱抑制心肌炎症因子对大鼠急性缺血性心肌损伤的保护作用 [J]. 华西药理学杂志, 2016, 31(6): 562-565.
- [26] 肖云军, 黄海雄, 吴小敏, 等. 甜菜碱对高SAH诱导动脉粥样硬化保护作用 [J]. 中国公共卫生, 2017, 33(3): 478-481.
- [27] 刘勃纓, 姜双瑜, 李新悦, 等. 磷脂复合物改善阿司匹林对大鼠胃肠道刺激性作用的研究 [J]. 天津医科大学学报, 2018, 24(3): 201-204.
- [28] 刘雪莹, 刘雨霏, 陈昊媛, 等. 梅花鹿鹿茸和马鹿鹿茸中5种核苷类成分的含量比较 [J]. 中国现代应用药学, 2018, 35(11): 1675-1679.
- [29] 何忠梅, 李阔, 祝洪艳, 等. 氨基酸衍生技术对中药难溶性有效成分优化的研究进展 [J]. 上海中医药杂志, 2015, 49(11): 87-90.
- [30] 刘文媛, 李春义, 巴恒星, 等. 鹿茸四个区段非靶向代谢组学研究 [J]. 吉林农业大学学报: [2019-06-21]. <https://doi.org/10.13327/j.jjlau.2019.4627>.