

质量分析

驴皮特征肽的发现及其在阿胶鉴别中的应用^{*}石峰¹, 杭宝建¹, 迟连利², 李雪², 徐丽华¹, 魏峰³, 程显隆³, 巩丽萍^{1**}, 马双成^{3**}

(1. 山东省食品药品检验研究院, 济南 250101; 2. 山东大学, 济南 250100; 3. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

摘要 **目的:** 建立阿胶中驴皮源成分的鉴别方法。**方法:** 通过序列比对发现理论的驴皮特征肽, 并利用纳升液相色谱-高分辨质谱进行确证阿胶特征肽 GPTGEPGKPGDK。利用胰蛋白酶对阿胶样品进行酶解, 利用超高效液相色谱-三重四极杆质谱(UPLC-QQQ MS)对阿胶的专属性特征肽段进行检测。色谱柱为 ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (2.1 mm×150 mm, 1.7 μm), 流动相为 0.1% 甲酸溶液(A)-乙腈(B), 梯度洗脱(0~3 min, 96%A; 3~8 min, 96%A→92%A; 8~10 min, 92%A→50%A; 10~12 min, 50%A; 12~12.1 min, 50%A→96%A; 12.1~15 min, 96%A), 流速 0.3 mL·min⁻¹, 柱温 40 °C, 进样量 5 μL; 离子化模式为 ESI+, 进行多反应监测, 选择阿胶特征分子离子峰 m/z 380.71→374.82, m/z 380.71→493.56 作为检测离子对。**结果:** 10 批阿胶样品均检出驴皮特征肽。**结论:** 所建立的方法专属性强, 可用于阿胶中驴皮源成分的鉴别。**关键词:** 阿胶鉴别; 驴皮特征多肽; 胶原蛋白; 胶类药材

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2017)12-2272-07

doi: 10.16155/j.0254-1793.2017.12.23

Discovery of marker peptide of donkey for identification of donkey-hide gelatin^{*}SHI Feng¹, HANG Bao-jian¹, CHI Lian-li², LI Xue², XU Li-hua¹,
WEI Feng³, CHEN Xian-long³, GONG Li-ping^{1**}, MA Shuang-cheng^{3**}

(1. Shandong Institute of Food and Drug Control, Jinan 250101, China; 2. Shandong University, Jinan 250100, China;

3. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

Abstract **Objective:** To develop a method for identification of donkey-hide gelatin. **Methods:** Species-specific peptide GPTGEPGKPGDK of donkey skin was predicted by sequence comparison and was verified by NanoLC coupled with Orbitrap mass spectrometry. Samples were digested by trypsin. Ultra-high performance liquid chromatography (UPLC) coupled with triple quadrupole mass spectrometry (QQQ MS) was used to detect the specific marker peptides in donkey-hide gelatins. Determination was carried out on an ACQUITY UPLC BEH

* 国家重大新药创制中药安全检测技术及标准平台(No.2014ZX09304307)——中药质量安全检测和风险控制技术平台(No.2014ZX0930437-002)

** 通信作者 巩丽萍 Tel: (0531) 81216561; E-mail: gongliping_lp@163.com

马双成 Tel: (010) 67095424; E-mail: masc@nicpbp.org.cn

第一作者 Tel: 13953175123; E-mail: 13953175123@139.com

C₁₈ (2.1 mm × 150 mm, 1.7 μm) column at temperature of 40 °C. The mobile phase was composed of 0.1% formic acid (A) and acetonitrile (B) with gradient elution (0–3 min, 96%A; 3–8 min, 96%A → 92%A; 8–10 min, 92%A → 50%A; 10–12 min, 50%A; 12–12.1 min, 50%A → 96%A; 12.1–15 min, 96%A) at a flow rate of 0.3 mL · min⁻¹. The electrospray ionization (ESI) source was performed in multiple reaction monitoring (MRM) mode with the transitions of *m/z* 380.71 → 374.82 and 493.56. **Results:** The sequence of marker peptide was GPTGEPGKPGDK. The marker peptide could be detected in all samples by this method. **Conclusion:** The established method is specific, which is suitable for the identification of donkey-hide gelatin.

Keywords: identification of donkey-hide gelatin; marker peptide; collagen; gelatin medicine

阿胶由驴皮熬制而成^[1],具有补血滋阴、润燥、止血的功效^[2-4]。随着阿胶药材需求不断上升,以及生产原料驴皮供应量的限制,阿胶价格昂贵,阿胶药材的掺伪造假问题日趋严重,存在使用其他劣质皮类替代驴皮熬制阿胶的违法问题。马皮、牛皮、猪皮、羊皮供应量大,价格便宜,是阿胶掺伪中用到的可能性较大的皮源^[5-6]。

阿胶的主要成分是驴皮胶原蛋白高温不完全水解后的肽段^[7]。不同物种的蛋白序列存在差异,胰蛋白酶可识别多肽链中的赖氨酸和精氨酸切割多肽链,如果赖氨酸和精氨酸的后一个氨基酸是脯氨酸,胰蛋白酶不切割此位点^[8]。不同物种的蛋白序列经胰蛋白酶酶切后可能形成物种特异性的多肽,蛋白酶酶切技术和质谱多肽识别技术已经被广泛应用于动物胶原蛋白的鉴别^[9-12]。利用质谱和主成分分析的方法发现了牛皮胶原蛋白特征肽,建立了胶类药材中牛皮源成分的专属性检测方法^[13-16],有效地打击了阿胶中掺入牛皮源成分的违法行为;还发现了相对于牛皮胶、猪皮胶、龟甲胶、鹿角胶具有特异性的驴皮源成分特征肽^[17-19],建立了阿胶、龟甲胶、鹿角胶中驴皮源成分的检测方法,广泛地应用于胶类药材的检测。本研究针对利用马皮、猪皮、牛皮、羊皮冒充驴皮熬制阿胶的造假行为,通过比对驴、马、猪、牛、羊胶原蛋白的序列,模拟胰蛋白酶酶切的结果,获得了一条理论的相对于马、猪、牛、羊具有特异性的驴胶原蛋白特征性多肽,通过合成驴皮特征肽,在纳升液相色谱-高分辨质谱上得到了进一步确证,并进一步采用超高效液相色谱-三重四极杆质谱联用仪建立了阿胶中驴皮源成分的专属性鉴别方法,并进行了方法学验证。

1 仪器与材料

1.1 仪器 EASY-nLC 1000 纳升液相色谱仪(美

国热电科技公司), Fusion-Orbitrap 高分辨质谱仪(美国热电科技公司);自制纳升液相色谱富集色谱柱(0.2 mm × 3.5 cm; 填料:十八烷基硅烷键合硅胶,孔球形硅胶粒径 5 μm,德国迈克公司),自制纳升液相色谱分析色谱柱(75 μm × 25 cm; 填料:十八烷基硅烷键合硅胶,孔球形硅胶粒径 3 μm,德国迈克公司)。Waters Acquity 超高效液相色谱仪、Waters Quattro Premier XE 三重四极杆质谱仪(沃特世科技公司); Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(2.1 mm × 150 mm, 1.7 μm; 填料:十八烷基硅烷键合硅胶,桥式亚乙基杂化颗粒(沃特世科技公司)。KQ200DB 超声清洗仪(中国昆山超声仪器有限公司)。XSE205 电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司)。

1.2 试剂 碳酸钠、碳酸氢铵为分析纯;甲酸、乙腈为色谱纯;水为 Milli-Q 纯水;胰蛋白酶购自 Sigma 公司,货号 T1426-100 mg。驴皮特征肽 GPTGEPGKPGDK 由上海强耀生物科技有限公司合成,纯度为 98%。

1.3 胶类样品 阿胶对照药材购自中国食品药品检定研究院,编号为 121274-201202;自制阿胶(6份)、自制猪皮胶(3份)、自制马皮胶(3份)、自制牛皮胶(3份)、自制羊皮胶(3份)由以下制备工艺获得:取鲜皮 10 g,去毛,水浸泡 4 d,每天换水 2 次,1% 碳酸钠水溶液浸泡 1 d,水洗净,加水 90 mL,115 °C 熬制 8 h 获得胶液,胶液滤过,滤液浓缩成稠膏,100 °C 真空干燥箱干燥 4 h 获得胶。

阿胶样品由生产厂家提供,具体信息见表 1。

2 方法与结果

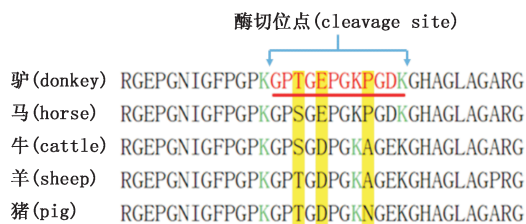
2.1 理论的驴皮胶原蛋白特征肽的发现 阿胶中的主要成分为驴皮胶原蛋白水解后的多肽。皮类胶原蛋白主要由 I 型胶原蛋白组成,占 80%~85%,I 型胶原蛋白又包括 I 型 α1、α2 亚型。通过对驴与马、

牛、猪、羊的 I 型 $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 胶原蛋白序列进行 blast 多序列比对,发现不同物种胶原蛋白 COL I $\alpha 2$ 之间存在差异(图 1);通过模拟胰蛋白酶酶切驴胶原蛋白获得一条理论的驴相对于马、牛、猪、羊的胶原蛋白特征肽,序列为 GPTGEPGKPGDK,对应驴皮胶原蛋白 COL I $\alpha 2$ 的第 497~508 个氨基酸。

表 1 阿胶样品信息

Tab. 1 Information of sample

序号 (No.)	生产厂家 (manufacturer)	生产批号 (lot No.)
1	A	1508045
2	A	1508046
3	A	1508039
4	B	160304
5	B	160303
6	C	15070222
7	D	150309
8	E	150039
9	F	201409002
10	G	20150307

图 1 胶原蛋白 COL I $\alpha 2$ 序列比对Fig. 1 Sequence alignment of collagen I $\alpha 2$

2.2 供试品溶液的制备 精密称定胶类药材 0.10 g, 置 50 mL 量瓶中,加 1% 碳酸氢铵溶液 40 mL,超声 (100 W, 40 kHz) 处理 30 min,使样品完全溶解并加 1% 碳酸氢铵溶液定容至刻度,过 0.22 μm 的滤膜,取 100 μL 续滤液至 200 μL 微量进样瓶中,加 2 μL 胰蛋白酶溶液 (取序列分析纯胰蛋白酶适量,加 1% 碳酸氢铵溶液溶解,制成每 1 μL 中含 20 μg 的溶液),摇匀,37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温酶解 16 h,即得。

2.3 纳升液相色谱和 Fusion-Orbitrap 高分辨质谱条件 采用 EASY-nLC 1000 纳升液相色谱系统分离。流动相 A 为 2% 乙腈的 0.1% 甲酸水溶液,流动相 B 为含 98% 乙腈的 0.1% 甲酸水溶液,洗脱梯度设置见表 2,进样量为 1 μL 。首先采用自制纳升液相色谱

富集色谱柱进行富集,并串联自制纳升液相色谱分离色谱柱进行分析。

表 2 纳升液相色谱梯度洗脱程序

Tab. 2 Gradient elution program of nano liquid chromatography

时间 (time)/min	流速 (flow rate) / ($\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$)	流动相 (mobile phase)	
		A/%	B/%
0	300	100	0
15	300	93	7
70	300	78	22
90	300	65	35
95	300	10	90
96	450	10	90
105	450	10	90

采用 Fusion-Orbitrap 高分辨质谱仪,离子源为 Nanospray Flex 纳喷源。以正离子模式进行分析,喷雾电压为 2.1 kV,离子传输毛细管温度为 275 $^{\circ}\text{C}$,S-Lens 传输效率设置为 60%。一级质谱采用 Orbitrap 作为质量分析器,分辨率为 60 000 (m/z 400),采集范围为 350~1 650 Th;二级质谱采用离子阱作为质量分析器,采用 Rapid Scan 模式进行扫描,利用 Top 20 数据依赖模式进行母离子选择,采用 CID 模式进行碎裂,碎裂能量 NCE 设置为 35%。

2.4 超高效液相色谱和三重四极杆质谱条件 采用超高效液相系统,色谱柱为 ACQUITY UPLC[®] BEH C₁₈ (2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.7 μm),流速 0.3 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$,流动相 A 为 0.1% 甲酸溶液,B 为 0.1% 甲酸乙腈,进行梯度洗脱,洗脱程序见表 3,进样量 5 μL 。

表 3 超高效液相色谱梯度洗脱程序

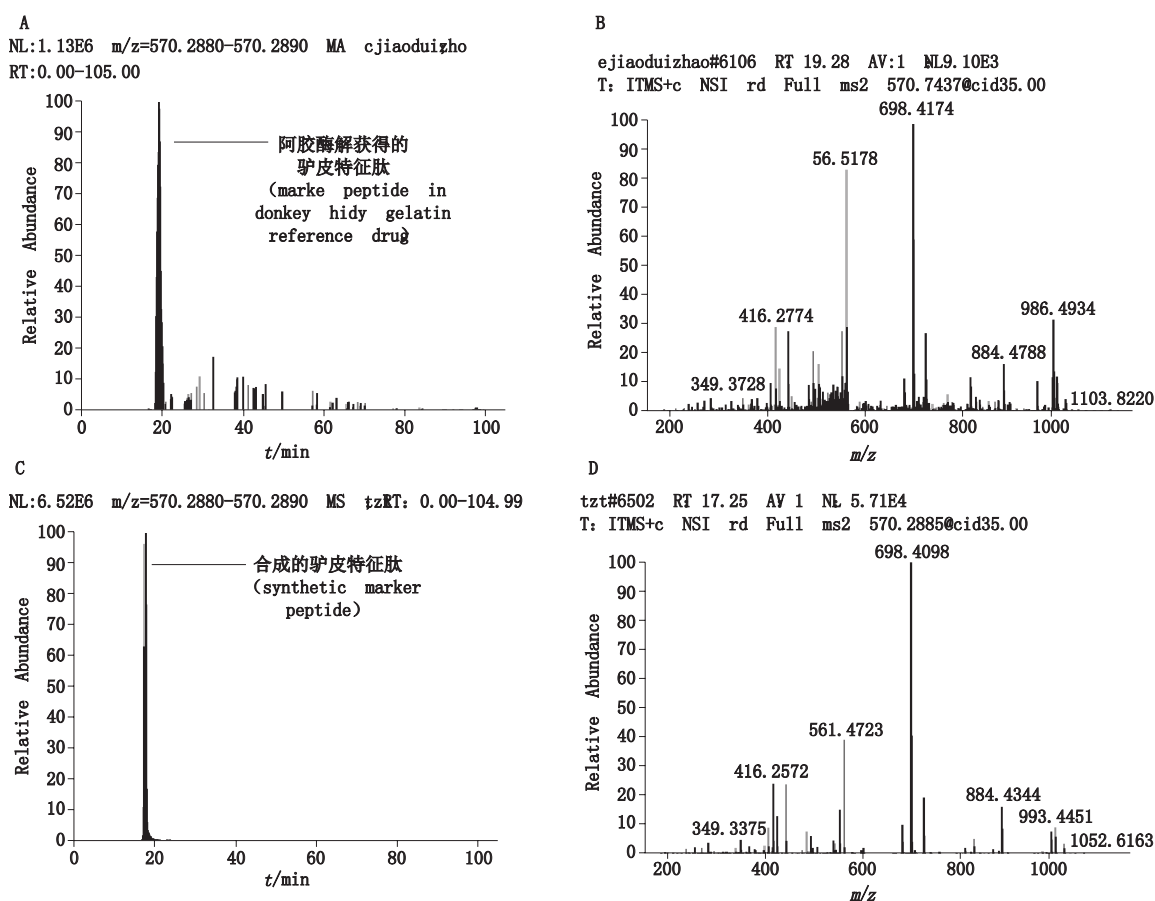
Tab. 3 Gradient elution program of UPLC

时间 (time) /min	流动相 (mobile phase)	
	A/%	B/%
0	96	4
3	96	4
8	92	8
10	50	50
12	50	50
12.1	96	4
15	96	4

采用 Waters Quattro Premier XE 三重四极杆质谱系统,电喷雾离子化(ESI),正离子模式下,进行多反应监测,选择 m/z 380.71 $\rightarrow$ 374.82, 493.56 作为检测离子对。

2.5 驴皮特征肽的验证 采用供试品溶液制备方法制备阿胶对照药材溶液,注入 EASY-nLC 1000 纳升液相色谱-Fusion-Orbitrap 高分辨质谱联用仪进行分析,以全部驴胶原蛋白序列为数据库,将阿胶酶解后的多肽质谱信息用 SEQUEST 软件进行数据库搜

索,特征肽的提取离子流色谱(EIC)、二级质谱如图 2-A、B 所示,证实了驴皮特征肽 GPTGEPGKPGDK 的存在。为了进一步确证驴皮特征肽,委托上海强耀公司合成了特征肽,并对合成的多肽进行高分辨质谱检测,其选择离子色谱峰与样品中的待检色谱峰的保留时间一致(图 2-C、D);二级质谱图也一致。驴皮特征肽二级质谱碎片信息归属与理论一致,见图 3,进一步验证的驴皮特征肽。



A、B. 阿胶对照药材中的驴皮特征肽(marker peptide in donkey hide gelatin reference drug) C、D. 合成的驴皮特征肽(synthetic marker peptide)

图2 驴皮特征肽提取离子流色谱和二级质谱图

Fig. 2 The extracted ion chromatogram and MS/MS spectra of marker peptide

2.6 专属性试验 按供试品制备方法制得阿胶对照药材以及自制阿胶(6份)、猪皮胶(3份)、马皮胶(3份)、牛皮胶(3份)、羊皮胶(3份)的供试品溶液,注入超高效液相色谱和三重四极杆质谱仪进行平行测定,检测结果如图4所示,阿胶中驴皮特征肽 GPTGEPGKPGDK 的特征峰 m/z 380.71 $\rightarrow$ 374.82, 493.56 的保留时间在 2.21 min,猪皮胶、马皮胶、牛

皮胶、羊皮胶在 2.21 min 无驴皮特征肽的特征峰 m/z 380.71 $\rightarrow$ 374.82, 493.56,说明该方法的专属性强。

2.7 稳定性试验 取阿胶对照药材溶液,以 m/z 380.71 $\rightarrow$ 374.82, 493.56 作为驴皮特征肽的特征离子进行检测,分别于 0、2、4、8、16、24 h 测定,保留时间为 2.21 min, RSD ($n=6$) 为 5.0%。结果表明阿胶对照药材溶液在 24 h 内基本稳定。

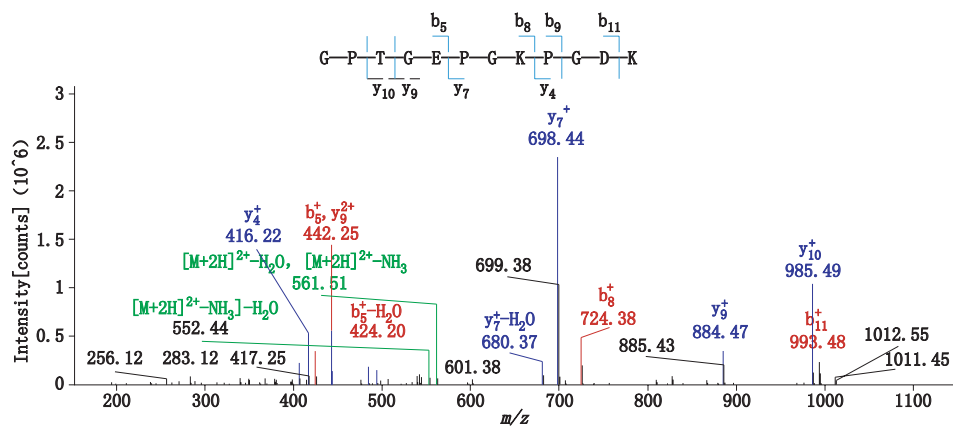
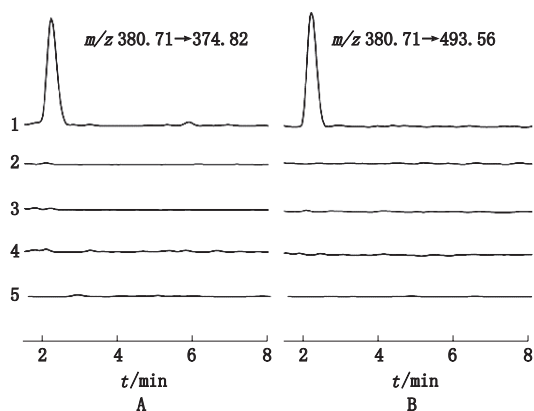


图3 驴皮特征肽离子碎片信息归属

Fig. 3 Identification of marker peptide fragment ion



1. 阿胶对照药材 (donkey hide gelatin reference drug) 2. 马皮胶 (horse hide gelatin) 3. 牛皮胶 (cattle hide gelatin) 4. 猪皮胶 (pig hide gelatin) 5. 羊皮胶 (sheep hide gelatin)

A. m/z 380.71 → 374.82 B. m/z 380.71 → 493.56

图4 驴皮特征肽的 MRM 色谱图

Fig. 4 MRM chromatograms of marker peptide

2.8 重复性试验 取阿胶对照药材平行制备 6 份溶液,以 m/z 380.71 → 374.82、493.56 作为检测离子对进行测定,保留时间为 2.21 min, RSD ($n=6$) 为 5.9%,结果表明 6 份样品的测定具有较好的重复性。

2.9 样品的测定 以所建立的方法对 10 份阿胶样品进行了检测,结果如图 5 所示,均检出了驴皮特征肽的特征峰。

3 讨论

3.1 阿胶特征肽监测离子对的选择 取按照供试品溶液制备方法制备的阿胶对照药材溶液,选择母离子为两电荷的离子对 m/z 570.31 → 698.37, 416.24 和母离子为三电荷的离子对 m/z 380.71 → 374.82, 493.56 进行监测分析,结果见图 6,三电荷的驴皮特征肽离子的响应明显优于两电荷的驴皮特征肽离子,因此选

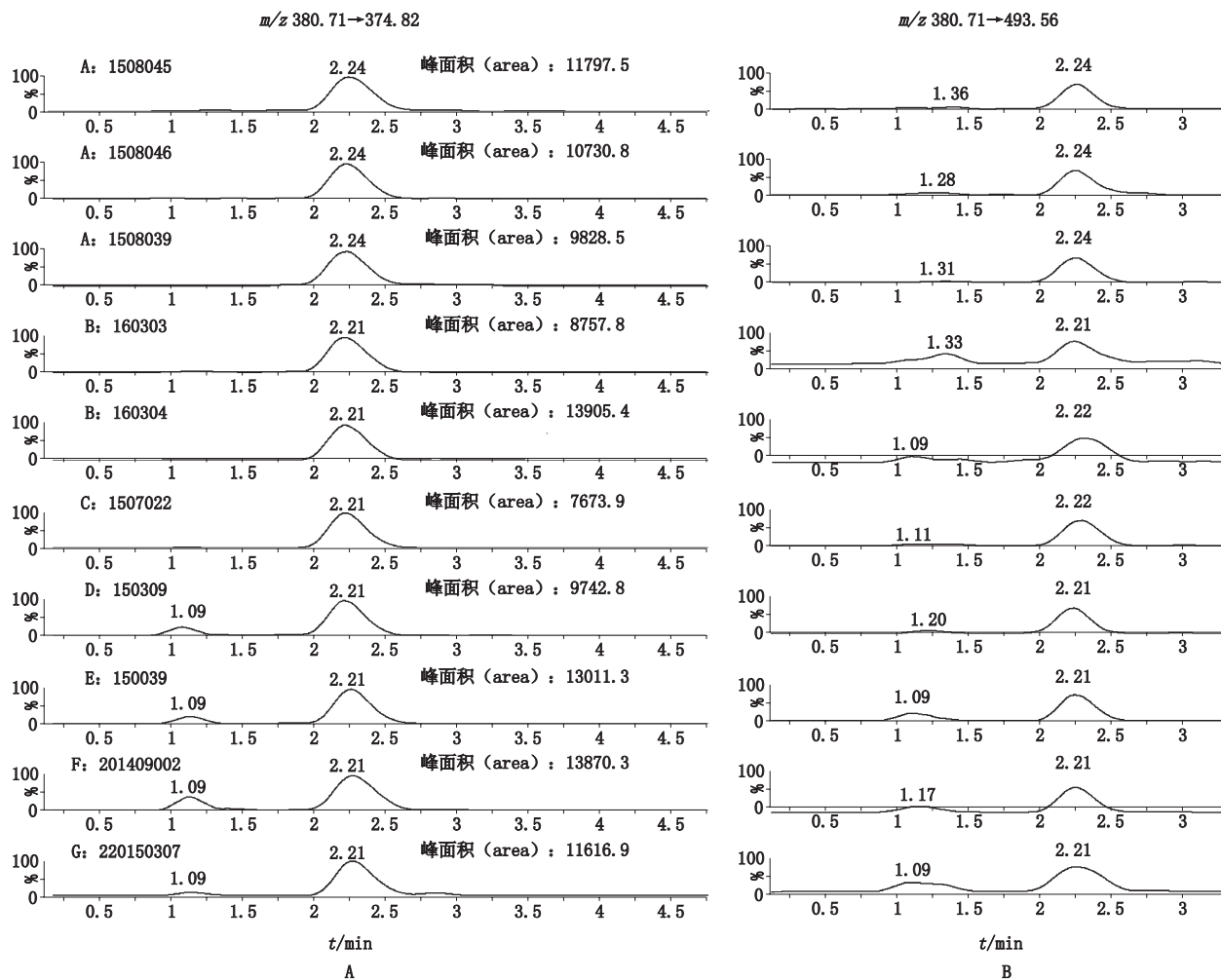
择 m/z 380.71 → 374.82, 493.56 作为驴皮特征肽的监测离子对。

3.2 色谱条件 参照阿胶中牛皮源质量补充检验方法中的色谱条件^[20],采用 0.1% 甲酸溶液 (A) - 乙腈 (B) 作为流动相,按该补充检验方法中的洗脱条件驴皮特征肽的保留时间约为 1.5 min,保留时间短,进一步优化梯度洗脱条件,最终确认本实验所用的梯度洗脱条件,驴皮特征肽的保留时间为 2.21 min,分离效果良好。

3.3 质谱条件 以多反应检测 (MRM) 方式对质谱参数进行优化,最终确定,毛细管电压为 3.5 kV,离子源温度为 150 °C,除溶剂温度为 450 °C,除溶剂气体为 850 L · h⁻¹。同时,对锥孔电压和碰撞能量等进行优化,最终确定锥孔电压为 18 V,碰撞能量为 15 V。

3.4 酶解条件的考察 酶解方法的构建参照中国药典第四部^[21]“肽图检查法—第一法胰蛋白酶裂解—反相高效液相色谱法”。为保证胶类药材中的驴皮胶原蛋白成分被完全酶解,驴皮特征肽被充分释放,取阿胶对照药材按供试品溶液制备方法操作,分别在 37 °C 恒温酶解 0、4、8、16、24 h 后进样,以选择离子 m/z 380.71 → 374.82 的峰面积考察样品酶解的情况,结果如图 7,在 16 h 后选择离子 m/z 380.71 → 374.82 的峰面积基本无变化,说明样品在 16 h 内已经被充分酶解。

3.5 小结 阿胶是驴皮高温熬制的产物,驴皮中的主要蛋白是胶原蛋白,阿胶的主要成分是胶原蛋白不完全水解后的多肽。本文首先将驴、马、猪、牛、羊的胶原蛋白序列进行比对,通过模拟胰蛋白酶酶切获得驴相对于其他物种的理论特征肽序列,再通过液相色



A. m/z 380.71 $\rightarrow$ 374.82 B. m/z 380.71 $\rightarrow$ 493.56

图5 样品中驴皮特征肽的MRM色谱图

Fig. 5 MRM chromatograms of marker peptide in sample

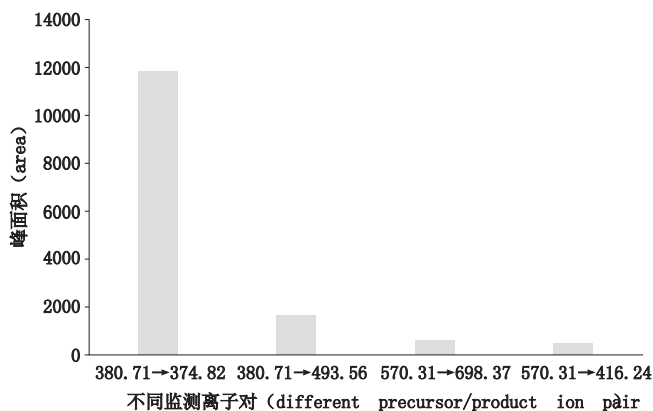


图6 监测离子的选择对驴皮特征肽检测的影响

Fig. 6 Effect of different precursor/product ion pair on detection of marker peptide

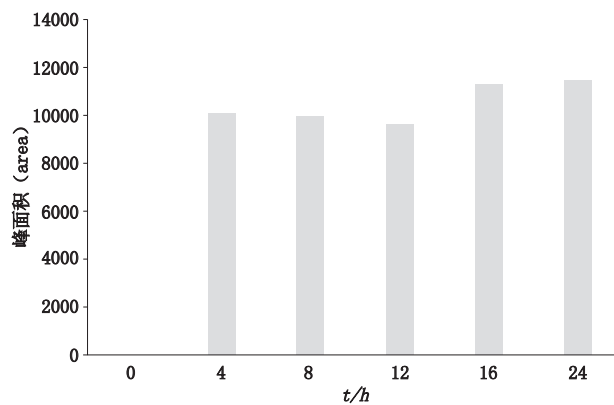


图7 酶解时间对特征肽检测的影响

Fig. 7 Effect of enzymatic hydrolysis time on marker peptide detection

谱-高分辨质谱联用的蛋白质组技术确证特征肽,该研究思路有较强的针对性和理论依据,可用于发现其他食品药品物种源性鉴定用特征肽。本文利用发现的驴皮特征肽建立阿胶中驴皮源成分的检测方法,该方法的专属性强,驴皮特征肽在室温下 24 h 内稳定,可用于阿胶中驴皮源成分的鉴别。

参考文献

- [1] 中国药典 2015 版. 一部[S]. 2015: 189
ChP 2015. Vol I [S]. 2015: 189
- [2] 尤金花,田守生,郭尚伟,等. 阿胶及其疗效功能的研究进展[J]. 明胶科学与技术, 2009, 29(4): 169
YOU JH, TIAN SS, GUO SW, *et al.* Advances in study of Ejiao and its curative effects [J]. Sci Technol Gelatin, 2009, 29(4): 169
- [3] 张少权. 阿胶原料的主要蛋白组成及其生理活性的研究[D]. 福建: 福州大学, 2005
ZHANG SQ. A Study on Major Constituent Proteins of Raw Material of Ejiao and Their Bioactivities [D]. Fujian: Fuzhou University, 2005
- [4] 郑筱祥,杨勇,叶剑锋,等. 东阿阿胶的升白作用及机制研究[J]. 中国现代应用药学, 2005, 22(2): 102
ZHENG XX, YANG Y, YE JF, *et al.* The mechanism of donkey-hide gelatin in increasing leukocyte [J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2005, 22(2): 102
- [5] 黄世琼,张伟,彭娅. 驴皮的真伪鉴别[J]. 海峡药学, 2016, 28(4): 50
HUANG SQ, ZHANG W, PENG Y. Studies on identification of furs of Equus Asinus [J]. Strait Pharm J, 2016, 28(4): 50
- [6] 胡晶红,李佳,张永清. GC-MS 分析驴皮、牛皮、马皮的脂肪成分[J]. 中成药, 2014, 36(12): 2648
HU JH, LI J, ZHANG YQ. Analysis of fat composition in the donkey skin, cattle skin, horse skin by GC-MS [J]. Chin Tradit Pat Med, 2014, 36(12): 2648
- [7] 胡军影,程显隆,肖新月,等. 阿胶的化学成分及质量评价方法研究进展[J]. 中国药事, 2007, 21(3): 193
HU JY, CHENG XL, XIAO XY, *et al.* Review on chemical compositions and quality evaluation of gelatina nigra [J]. Chin Pharm Aff, 2007, 21(3): 193
- [8] KEIL B. Specificity of Proteolysis [M]. Berlin: Springer-Verlag, 1992
- [9] 崔琳,张贵锋,刘涛,等. 液相色谱质谱联用分析不同年龄鼠皮中 I 型 III 型胶原蛋白相对含量[J]. 中国生物工程杂志, 2007, 27(4): 71
CUI L, ZHANG GF, LIU T, *et al.* High performance chromatography/mass spectrometric analysis of the collagen I / III ratio in rat skin at different stages of growth [J]. Chin Biotech, 2007, 27(4): 71
- [10] 张贵锋,刘涛,王前,等. 高效液相色谱/质谱识别不同明胶降解产物中特征性多肽[J]. 分析化学, 2008, 36(11): 1499
ZHANG GF, LIU T, WANG Q, *et al.* Identification of specific peptides in digested gelatins by high performance liquid chromatography/mass spectrometry [J]. Chin J Anal Chem, 2008, 36(11): 1499
- [11] ZHANG GF, LIU T, WANG Q, *et al.* Mass spectrometric detection of marker peptides in tryptic digests of gelatin: a new method to differentiate between bovine and porcine gelatin food [J]. Food Hydrocoll, 2009, 3(7): 2001
- [12] 王前,张贵锋,刘涛,等. 基于串联质谱的鱼皮明胶鉴别研究[J]. 中国生物工程杂志, 2009, 29(6): 101
WANG Q, ZHANG GF, LIU T, *et al.* Differentiation of fish gelatin from bovine/porcine gelatin by tandem mass spectrometry [J]. Chin Biotech, 2009, 29(6): 101
- [13] 程显隆,李文杰,魏峰,等. 动物胶类药材的鉴别方法研究进展[J]. 亚太传统医药, 2011, 7(3): 167
CHENG XL, LI WJ, WEI F, *et al.* Advances in studies on identified method of gelatins [J]. Asia Pac Tradit Med, 2011, 7(3): 167
- [14] 程显隆,李文杰,张小龙,等. UPLC-QTOF-MS 结合主成分分析法用于龟甲胶、鹿角胶中添加牛皮源成分的检测研究[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(6): 931
CHENG XL, LI WJ, ZHANG XL, *et al.* Identification of bovine-hide gelatin from glue of tortoise shell and deer-horn gelatin by UPLC-QTOF-MS and principal component analysis [J]. Chin J Pharm Anal, 2012, 32(6): 931
- [15] CHENG XL, WEI F, CHEN J, *et al.* Using the doubly charged selected ion coupled with MS/MS fragments monitoring (DCSI-MS/MS) mode for the identification of gelatin species [J]. J Anal Methods Chem, 2014, 2014: 49
- [16] CHENG XL, WEI F, XIAO XY, *et al.* Identification of five gelatins by ultra performance liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry (UPLC/Q-TOF-MS) using principal component analysis [J]. J Pharm Biomed Anal, 2012, 62(2): 191
- [17] 程显隆. 胶类药材质量控制关键技术研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2012
CHENG XL. Studies on the Technique of Quality Control of Gelatin Drug [D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2012
- [18] 程显隆,陈佳,李明华. 特征肽段检测技术用于胶类药材专属性鉴别方法研究[J]. 中国药理学杂志, 2015, 50(2): 104
CHENG XL, CHEN J, LI MH, *et al.* Identification study of glue medicines [J]. Chin Pharm J, 2015, 50(2): 104
- [19] 龙国友,李明华,刘薇,等. 超高效液相色谱-三重四级杆质谱法检测阿胶补血颗粒中的阿胶[J]. 药物分析杂志, 2016, 36(5): 826
LONG GY, LI MH, LIU W, *et al.* RR/LC/QQQ-MS analysis of donkey-hide gelatin in Ejiao Buxue granules [J]. Chin J Pharm Anal, 2016, 36(5): 826
- [20] 国家食品药品监督管理局药品检验补充检验方法和检验项目批准件. 编号 2012012 [S]. 2012
State Food and Drug Administration Inspection and Additional Testing Methods and Project Approval Documents. No. 2012012 [S]. 2012
- [21] 中国药典 2015 年版. 四部[S]. 2015: 189
ChP 2015. Vol IV [S]. 2015: 189

(本文于 2016 年 12 月 22 日收到)