

胶类中药质量控制研究进展

董洪霜^{1,2}, 张静娴¹, 胡青¹, 孙健¹, 冯睿¹, 张甦¹, 于泓¹, 季申^{1*}

1. 上海市食品药品检验所, 上海 201203

2. 中国医药工业研究总院, 上海 201203

摘要: 胶类中药是我国名贵滋补中药, 历史悠久、应用广泛。胶类中药质量控制经历了由理化检测、薄层色谱法、电泳法、光谱法、高效液相色谱法, 到 DNA 鉴定技术、以特征肽为靶标的液相色谱-质谱联用方法等。对近年来胶类中药质量控制研究进行概述, 剖析存在的问题, 并提出进一步完善质量控制体系的可行性研究方案, 为胶类中药及相关产品的综合评价提供思路。

关键词: 胶类中药; 阿胶; 鹿角胶; 龟甲胶; 质量控制

中图分类号: R282.74 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)13-3166-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.13.032

Research progress on quality control of gelatinous Chinese materia medica

DONG Hong-shuang^{1,2}, ZHANG Jing-xian¹, HU Qing¹, SUN Jian¹, FENG Rui¹, ZHANG Su¹, YU Hong¹, JI Shen¹

1. Shanghai Institute for Food and Drug Control, Shanghai 201203, China

2. China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 201203, China

Abstract: Gelatinous Chinese materia medica (GCMM), as a valuable nourishing traditional medicine in China, has been used widely for a long time. The quality control for GCMM has undergone a long development, including physical and chemical tests, thin layer chromatography, electrophoresis, spectroscopy, HPLC, DNA identification techniques, and LC-MS with unique peptide as target. The article summarizes the progress of quality control system of GCMM in recent years, analyzes the remaining problems, puts forward the feasibility protocol to further improve the quality control system, and provides ideas for the comprehensive evaluation of GCMM and its related products.

Key words: gelatinous Chinese materia medica; *Asini Corii Colla*; *Cervi Cornus Colla*; *Testudinis Carapacis et Plastris Colla*; quality control

胶类中药是用动物皮、骨、甲、角等为原料, 经提取、分离等工艺制成的固体块状的胶剂, 具有补血、止血、祛风以及妇科调经等功效, 历史悠久、应用广泛, 常见的有阿胶 *Colla Corii Asini*、新阿胶、黄明胶、鹿角胶 *Cervi Cornus Colla*、龟甲胶 *Testudinis Carapacis et Plastris Colla*、鱼皮胶、虎骨胶。《中国药典》2015 年版收载阿胶、鹿角胶、龟甲胶, 新阿胶、黄明胶收载于《卫生部药品标准中药成方制剂》第 19 册。胶类中药是我国传统名贵中药材, 历代本草和中医药典籍都有对其功效的记载。阿胶由马科动物驴 *Equus asinus* L. 的皮经熬制而成, 可滋阴补血、润燥、止血、延缓衰老、提高免疫力^[1-2]。

《神农本草经》最早记录鹿角胶由梅花鹿 *Cervus nippon* Temminck 或马鹿 *C. elaphus* Linnaeus 的角熬制而成, 主治伤中劳绝、腰痛羸瘦、阳痿遗精、补中益气^[1]。龟甲胶是由龟科动物乌龟 *Chinemys reevesii* Gray 背甲或腹甲熬制而成的胶, 主治体虚盗汗、腰膝酸软^[1]。

胶类中药应用广泛, 《中国药典》2015 版收载的相关成方制剂如表 1 所示。市场上动物胶类制品众多, 有阿胶补血膏、参茸阿胶、复方阿胶浆、阿胶糕、阿胶、鹿角胶、龟甲胶等, 近年来随着人民生活水平的提高和日常保健意识的增强, 胶类中药需求量逐年增加。米内网^[3]统计 2016 年中国城市零

收稿日期: 2018-04-12

基金项目: 上海市科委研发平台专项“上海市中药和保健食品品质与安全检测专业技术服务平台”(18DZ2292200)

作者简介: 董洪霜(1993—), 女, 硕士研究生在读, 研究方向为药物分析。Tel: 13122501835 E-mail: donghsh2116@163.com

*通信作者 季申, 主任药师, 博士生导师, 研究方向为中药、天然药物及保健食品和有害残留物的质量标准。

Tel: (021)50798195 E-mail: jishen2013@163.com

表 1 《中国药典》2015 年版收载的含胶类中药的成方制剂

Table 1 Compound preparations containing GCMM in Chinese Pharmacopoeia 2015

品种	成方制剂
阿胶	加味生化颗粒、孕康合剂/颗粒、再造生血片、当归养血丸、妇良片、妇科止带片、阿胶三宝膏、阿胶补血口服液/膏、驴胶补血颗粒、定坤丹、参茸保胎丸、驻车丸、复方阿胶浆、山东阿胶膏、养心定悸口服液/膏、致康胶囊、脏连丸、益血生胶囊、调经丸、通脉养心口服液/丸、乙肝养阴活血颗粒、二十七味定坤丸、七制香附丸、女金丸/胶囊、天紫红女金胶囊、止血复脉合剂、止红肠辟丸、半黄清心丸（局方）
鹿角胶	右归丸、健脑安神片、益血生胶囊、添精补肾膏、乌鸡白凤片/丸/颗粒、龟鹿补肾丸
龟甲胶	龟鹿补肾丸、添精补肾膏、益血生胶囊

售药店中成药销售数据 TOP10 中，阿胶及其相关制品市场份额占 70%。随着市场的扩大、价格上涨、利润空间增长，胶类药材以假乱真、以次充好现象时有发生^[4]。而龟甲胶、鹿角胶原料价格昂贵，不法分子在制胶过程中加入阿胶、明胶或杂皮胶以降低成本，严重影响了患者和消费者的饮食、用药安全。

胶类中药主要组成为蛋白质及在制胶过程中水解生成的多肽、氨基酸等，本文以检测指标进行分类，对近年来胶类中药质量控制研究进展进行概述，剖析存在的问题，并提出进一步完善质量控制体系的可行性研究方案，为胶类中药及相关保健食品的综合评价提供思路。

1 胶类中药质量控制方法研究

胶类中药主要成分为蛋白质及在制胶过程中降解产生的多肽和氨基酸，还含有多糖、微量元素等^[5-7]。

1.1 氨基酸的测定

阿胶、鹿角胶、龟甲胶皆含有胶原蛋白，其组成氨基酸主要包括甘氨酸、丙氨酸、脯氨酸和 L-羟脯氨酸。由于大部分氨基酸没有发色基团，无法直接使用紫外或者荧光检测器检测，需要衍生化处理，或者采用通用型检测器^[8-10]，其中，柱前衍生化法应用较为广泛。《中国药典》2015 年版阿胶、鹿角胶和龟甲胶的含量测定采用异硫氰酸苯酯（PITC）对酸水解后的氨基酸进行柱前衍生化处理，采用高效液相色谱法测定 4 种氨基酸含量，限度要求如表 2 所示^[1]，阿胶中氨基酸含量限度高，龟甲胶和鹿角胶相当。文献报道，刘雯等^[11]采用一测多评柱前

衍生化法建立了阿胶中 4 种氨基酸的含量测定方法。李婉斯等^[12]采用柱前衍生化法建立阿胶中 17 种氨基酸的指纹图谱。江东龙等^[13]采用柱前衍生化 HPLC 法建立了龟甲胶中 14 种氨基酸的含量测定方法。此法可监测样品氨基酸含量合格与否，然而不同胶类中药与其伪品之间氨基酸组成相似，以氨基酸为检测指标用于质量控制尚缺乏专属性。

1.2 特征肽的测定

由于不同生物的 DNA 存在差异，由 DNA 指导合成的蛋白质氨基酸序列必然存在差异，因此从氨基酸序列差异鉴别不同胶类中药具备理论可行性。近年来，采用胰蛋白酶对胶类药材中提取蛋白进行酶解，以差异氨基酸位点处相应肽段（特征肽）为指标的检测方法在胶类药材质量控制中得到了迅速的发展和广泛的应用。该方法通常采用质谱检测器，常用的主要有三重四级杆质谱、四级杆串联飞行时间质谱、离子阱质谱、轨道离子阱质谱。

胶类中药主要成分为高度同源的胶原蛋白，如何快速准确地寻找其差异位点，确定特征肽，目前主要有 3 种方法：第 1 种人工目测寻找，即采集正品、伪品或混淆品的多肽混合物色谱图，通过人工比较发现其差异性。该方法工作量大，由于样品量有限，可能存假阳性或者漏筛的可能性。第 2 种采用统计学方法对多批次不同物种来源的胶类中药的肽段信息进行统计分析，寻找差异性，再归属特征肽和相应的蛋白。该方法基于多批次样品，结果相对可靠，但是受限于目前蛋白数据库的限制，部分差异离子难以归属到肽段和蛋白。第 3 种为理论到实践的思路，以主要蛋白为分析对象，比较不同物种蛋白序列，找出差异性氨基酸位点，模拟胰蛋白酶酶切，找出理论的特征肽，进而进行实验验证，最终确定特征肽。

《中国药典》2015 年版采用液相色谱串联三重四级杆质谱法多重反应监测（MRM）模式，设定母

表 2 《中国药典》2015 年版胶类中药氨基酸含量限度

Table 2 Amino acid content limitation of GCMM in Chinese Pharmacopoeia 2015

胶类中药	甘氨酸/%	丙氨酸/%	L-脯氨酸/%	L-羟脯氨酸/%
阿胶	18.0	7.0	10.0	8.0
龟甲胶	12.4	5.2	6.2	5.4
鹿角胶	13.3	5.2	7.5	6.6

离子和子离子,对阿胶、鹿角胶、龟甲胶进行定性鉴别^[1],但无法检测杂皮胶掺伪。2013 年原国家食品药品监督管理总局出台的以阿胶中铬含量和牛皮特征肽为检查指标的牛皮掺伪测定补充检验方法,以及鹿角胶和龟甲胶中牛皮源成分和驴皮源成分掺伪测定补充检验方法^[14],一定程度上遏制了杂皮制胶的行为。但是随着胶类中药市场的扩大,出现了新的掺伪现象,猪皮胶、马皮胶、羊皮胶等逐渐成为造假的新目标^[15]。

Cheng 等^[16]采用 UPLC-QTOF-MS 法结合统计学方法寻找阿胶、黄明胶、新阿胶、龟甲胶、鹿角胶的特征离子,使用 MASCOT 软件搜索 Swiss-Prot 数据库中物种胶原蛋白序列信息,从而归属肽段。Xue 等^[17]采用生物信息学方法比较驴与马、牛、猪胶原蛋白序列,寻找差异肽段,并进行实验验证,确定了阿胶与马皮胶、牛皮胶、猪皮胶的特征肽。龙国友等^[18]采用液质联用仪检测阿胶补血颗粒中

的阿胶特征离子峰 m/z 539.8 及其碎片离子峰,3 批市售产品中皆可检测到特征离子峰。唐敏等^[19]使用 UPLC-QTOF-MS 检测到巴西龟所制龟甲胶中含牛皮源特征肽离子 m/z 641.3,且裂解碎片峰一致。

目前文献报道^[16-28]的特征肽、特征离子见表 3,可为以特征肽为检测指标的胶类中药质量标准的提高提供参考。阿胶和龟甲胶的专属特征肽序列分别为 GPTGEPGKPGDK、GLNGAPSFSPDGK,可用于二者及其相关制品的真伪鉴定。《中国药典》2015 年版阿胶鉴别特征肽离子对 m/z 539.8→612.4, 923.8 (序列 GPpGAAGPpGpR) 则为驴、马共有。因此,特征离子的专属性仍需要更多的代表性样品来验证。

1.3 蛋白质分析

以胶类中药中大分子蛋白质为检测指标,通常采用蛋白质通用分析方法,以相对分子质量、等电点等为评价指标。王若光等^[29]和李春梅等^[30]使用蛋

表 3 文献报道的胶类中药及其掺伪品特征肽和特征离子

Table 3 Statistics of unique peptides and ions of GCMM and their adulterants

药材	特征肽序列	特征离子 (m/z)	文献
阿胶	—	539.8→612.4, 923.8	1
	GEAGPAGPAGPIGPVGAR	765.866 5	16
	GPTGEPGKPGDK	570.289 15	17
	GEAGAAGPAGPAGPR	618.795	20
	GPAGPTGPVGK	469.244	
	GEAGPAGPAGPIGPVGAR	765.867	
	GPpGAAGPpGpR	539.774	
	—	536.765 3	21
		765.907 0	
	—	834.923 6	
		539.8	22
	GPTGEPGKPGDK	380.71→374.82, 493.56	23-24
	GATGPAGVR	393.24→384.42, 499.3	
	GEAGPQGAR	421.71→585.17, 656.26	
	GEIGNPGR	400.26→500.2, 613.27	
	GEIGNpGR	408.26→345.18, 516.22	
	GFPGAVGAKGEGGGAP	664.834 9	25
	FGSLDKADGGAGAP	660.315 1	
	LAGAPGFRAGP	523.274 6	
	FSGLDGSVAGGAGAP	631.804 5	
	QTGFPGAAGGVVGGP	680.335 1	
	DGTSGHDPDPIGPPGPR	519.6→596.3, 442.4	26
	GPPGESGAAGPAGPIGSR	517.6→586.3, 797.3	
	PGEAGPPGPPGPAGEK	731.8→1 035.5, 300.1	
	GPPGPMGPPGIAGPPGESGR	595.6→756.4, 699.3	
	GPNGEPGSTGPAGPPGIR	825.9→1 195.6, 837.5	
	DGTLGHPPGIAGPPGPR	514.3→596.3, 442.2	

续表 3

药材	特征肽序列	特征离子 (m/z)	文献
阿胶	GEQGPAGPPGFQIGPGAGTAGEVKGKPER	940.8→474.2, 756.4	26
	TGPPGPSGISGPPGPPGAAGK	602.0→767.4, 689.9	
	PGPTGLEGPPGER	640.3→741.4, 511.3	
	GPAGPTGPVVK	469.3→783.4, 712.4	
	GPSGPAGKDHR	539.8→924.5, 612.3	
	GIPGVAGSIGEPGPIGIAGPPGAR	715.7→641.3, 570.3	
	GEAGPAGPAGPIGPVGAR	765.9→991.6, 1 048.6	
	GIPGPAGAAGATGAR	620.3→602.3, 715.4	
	GPPGPVGPPIAGPPGESGR	893.0→1 264.6, 1 207.6	
	GIPGVAGSIGEPGPIGIAGPPGAR	1 073.1→513.3, 416.2	
	GEPGPVGSVGPVGAVGPR	802.9→809.5, 1 052.6	
	GPPGPVGPPIAGPPGESGR	601.0→508.8, 618.3	
	GPAGPNGIPGEK	555.8→446.2, 885.4	
	GPAGAVGAPGAGANGDRGEAGAAGPAGPAGPR	914.4→1 073.5, 1 137.5	
	GEPGPTGLPGPPGER	733.3→741.4, 640.3	
	GETGPSGPAGPTGAR	656.3→967.5, 870.4	
	SGDRGEAGPAGPAGPIGPVGAR	649.3→766.5, 955.4	
	IGAPGIIGIPGSR	620.4→535.3, 731.4	
	GLTGPIGPPGAGAPGDKGETGPSGPAGPTGAR	961.8→1 173.6, 1 145.1	
	VGPPGPSGNAGPPGPPGPVVK	614.6→837.4, 667.4	
	SGQPGTVGPAGVR	591.8→910.5, 813.5	
	GDGGPPGVTFPGAAGR	751.4→608.8, 849.4	
	GSPGGPGAAGFPGAR	652.3→580.8, 691.4	
	EGSPGAEGSPGR	566.7→430.2, 859.4	
	GPPGAVGAPGVNGAPGEAGR	868.9→730.4, 1 114.5	
	GEPGSTGPAGPPGIR	691.3→598.3, 780.4	
	GPPGESGAAGPAGPIGSR	775.9→811.4, 1 097.6	
	AGPPGPPGPVVK	531.8→467.8, 837.4	
	TGPPGPSGISGPPGPPGAAGK	902.4→823.4, 880.5	
鹿角胶	—	765.4→554.0, 733.0	1
	—	732.828 2	16
	SGETGASGPpGFAGEK	732.828	20
	—	765.4	22
	GGPGSVFGGPGADGVAGKP	539.265 5	25
	QPGTPGPEGLATQGP	719.850 0	
	VAGEPAAADGLPGGP	684.329 3	
	FSGLDGASVGGAGAP	631.804 4	
	—	631.3→546.4, 921.4	1
	—	758.352 6	16
龟甲胶	GETGPAGPAGPAGPAGAR	745.865	20
	GLNGAPSFSPDGK	631.328	
	GDGGPpGITGFPGASGR	758.353	
	—	631.3	22
	QTGFPGAAGRVP	680.337 6	25
	QPGFPGARGPAGGAP	692.835 8	
	QVGPAGLNAVQSGAGAP	783.904 5	
	LAGAPGFRQP	523.275 5	
	FSGLDGKDAGAGGAP	660.317 6	
	GASGPAGVR	386.208 95	17
马皮胶	GPSGEPGKPGDK	563.280 31	
	GASGPAGVR	386.25→499.25, 643.28	27
	GPSGEPGKPGDK	563.24→499.25, 416.22→698.37	

续表 3

药材	特征肽序列	特征离子 (<i>m/z</i>)	文献
黄明胶	—	641.3→726.2, 783.3	14
	GEAGPSGPGPTGAR	641.306 5	16
	GEAGPSGPAGPTGAR	641.312 95	
	GEGGPQGPR	427.709 82	17
	SGETGASGPpGFVGEK	747.348	20
	GEAGPSGPAGPTGAR	641.307	
	GPPGESGAAGPTGPIGSR	790.877	
	IGQpGAVGPAGIR	604.828	
新阿胶	—	641.3	22
	GEPGPTGVQGPMPAGEEGK	925.432 6	16
	GPTGPAGVR	406.225 24	17
	GEPGPTGVQGPMPAGEEGK	925.433	20
	GETGPAGPAGPVGPVGAR	774.3	
	TGETGASGPPGFAGEK	739.839	
	—	774.5	22
	GPTGPAGVR	406.55→657.81, 556.81	27
羊皮胶	GFpGSDGVAGPK	552.77→450.88, 900.47	28
p-羟脯氨酸 p-hydroxyproline			

白质芯片、激光解析离子化-飞行时间质谱技术 (SDLDI-TOF-MS) 建立了阿胶和龟甲胶水溶性蛋白质或多肽的蛋白质/肽成分质量指纹图谱。汪冰等^[31]使用凝胶排阻色谱 (GPC) 法, 研究阿胶中可溶性蛋白及多肽的相对分子质量分布, 结果显示相对分子质量主要集中在 $6 \times 10^3 \sim 5 \times 10^5$ 。常冰玉等^[32]采用多种分析手段对 9 种市售阿胶的蛋白质特性进行分析比较, 发现蛋白质等电点 (PI) 均在 4.38~4.88。在胶类中药在制胶过程中, 蛋白质的三螺旋结构均被破坏, 单链并有一定程度的随机降解, 相对分子质量变小, 常规 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳往往难以得到明显、完整的鉴别条带。

1.4 DNA 分子标记与条形码标记技术

DNA 技术主要用于胶类中药的用料来源鉴定。刘艳艳等^[33]根据马、驴、驴骡和马骡的核基因肌酸激酶 (CKM) 和线粒体基因组 DNA (mtDNA) 的 16 S rRNA 基因序列设计特异性引物, 并引入 18 S rDNA 作为内参质控, 利用多重荧光定量 PCR 技术可以检测阿胶原料的来源。罗晖明等^[34]采用 DNAMAN 对比驴、马线粒体细胞色素 b (Cyt b) 基因序列, 通过 PCR 扩增后酶切产物的差异性来区分驴皮、马皮。Zuo 等^[35]对比驴和马细胞色素 C 氧化酶亚基 I (COI) 序列, 设计引物对, 在 PCR 扩增、电泳分离后可将马皮、骡子皮与驴皮鉴别开。

DNA 技术在原料鉴定中虽然应用广泛, 但是胶类药材在加工制作过程中, 连续高温使 DNA 破坏严重, 且 DNA 提取过程中易受到其他提取物的影响, PCR 扩增后常常出现假阳性与假阴性结果, 该方法难以得到推广。

1.5 重金属及有害元素限量检查

动物胶生产过程中有不法商家混入含铬的废旧皮革, 造成铬含量超标, 引起人体中毒。《中国药典》2015 年版对重金属及有害元素的限量标准如下^[1]: 阿胶铅、镉、汞、铜、砷的限量分别是 5.0、0.3、0.2、20.0、2.0 mg/kg, 补充检验方法^[14]对铬的限量为 2.0 mg/kg; 龟甲胶中重金属炽灼残渣不得过 30.0 mg/kg; 鹿角胶中重金属炽灼残渣不得过 30.0 mg/kg, 砷盐限量 2.0 mg/kg。

有害元素检测方法有液相色谱法 (LC)、原子吸收光谱法 (AAS)、等离子电感耦合质谱 (ICP-MS) 等。Yang 等^[36]利用阀切换在线预处理离子色谱法建立了阿胶中六价铬 Cr (VI) 的检测方法。迟少云等^[37]用微波程序升温消解处理含阿胶的保健食品, 以原子吸收光谱法测定铅、铬含量, 原子荧光光谱法测定砷、汞含量。董自亮等^[38]用硝酸和过氧化氢对样品进行微波消解, 结合石墨炉原子吸收方法检测阿胶中砷、铅、铬、汞、镉、铜 6 种元素。孙大赢^[39]使用电感耦合等离子体质谱 (ICP-MS) 同时检测阿

胶中砷、铅、铬、汞、镉、铜的含量。

1.6 其他质量控制方法

近红外光谱法(NIRS)以胶类中药中有机化学成分为检测指标也可用于质量评价, Li 等^[40]采用近红外光谱指纹图谱技术和化学计量学方法, 可区分东阿阿胶与黄明胶、龟甲胶、鹿角胶及其他品牌的阿胶。Dong 等^[41]采用化学计量学方法结合近红外光谱仪对 43 批阿胶进行质量控制。刘晓倩等^[42]利用支持向量机(SVM)对不同品牌阿胶的红外光谱图进行分析, 建立 3 种品牌阿胶的鉴别模型。NIRS 用于胶类中药质量控制常常需要大量正品药材建立模型, 该方法主要用于原药材的快检初筛, 无法解决杂皮胶掺假及复杂制品中胶类药材检测的问题。

此外, 于海英^[43]以脂溶性成分为检测指标, 建立了阿胶、龟甲胶和鹿角胶的 HPLC 指纹图谱, 结果显示不同批次之间相似度均大于 0.90。余远斌等^[44]采用蒸馏提取阿胶样品气味分子, 结合气相色谱-质谱联用(GC-MS)和气相色谱-嗅闻测量法, 用主成分分析法(PCA)辨别东阿阿胶和其他产地阿胶在香气体味的区别。以上方法常常能鉴别出正品与伪品, 但对于含有一定比例伪品的胶类制品则不适用, 仍需要开发具有专属性的质量监控方法。

2 胶类中药质量控制面临的问题

2.1 缺乏专属性靶标成分

常规植物来源中药质量控制往往以单一或者几个小分子物质为靶标, 理想的靶标应当为中药的活性成分、特征性成分、主要成分, 胶类中药质控可沿袭这个思路, 寻找靶标成分。胶类中药主要成分为蛋白质及制胶过程中降解产生的多肽和氨基酸, 以蛋白质与水解氨基酸为靶标缺乏专属性; 以酶解特征肽作为靶标用于质控, 具备一定可行性, 但是由于胶类中药所属物种来源广泛^[45], 特征肽的专属性需要更多的样品来验证, 同时科研工作者应当运用蛋白质组学思路结合现代分离分析技术开展深入研究, 来筛选更加可靠的专属的特征肽。

2.2 缺乏深入的药效物质基础研究

胶类中药在我国传统医药领域具有重要影响力, 迄今已有 2 000 多年的用药历史, 主要功效为滋阴补血, 现代药理学研究表明其还具有抗炎、抑菌、抗肿瘤、改善贫血、提高免疫力、抵御衰老等功效^[46-47]。其主要成分为胶原蛋白, 含有 17 种氨基酸, 包括除色氨酸以外的 7 种人体必需氨基酸。关于胶类药材的质量控制, 可寻找与药效活性

相关的关键物质来监测。然而关于胶类中药的药理学研究目前尚缺乏权威、强有力的实验数据支持。Li 等^[48]探讨阿胶在增加 β -地中海贫血妊娠患者的血红蛋白浓度和改善异常血红蛋白组成中的作用, 将 72 例患者随机分为对照组和试验组, 试验组每日给予 15 g 阿胶, 对照组仅访问不予治疗, 但样本量较少, 数据可靠性不高。张飘飘等^[49]探讨了阿胶保护 PM_{2.5} 造成的大鼠呼吸系统损伤的作用, 但实验周期短, 实验组与模型组相比疗效并不十分显著。目前尚未有相关研究或论文得到可明确证明阿胶无效的有力双盲数据。因此, 为使普通消费者安心, 破除阿胶“水煮驴皮”的谣言, 阿胶药效与药效物质基础研究任重而道远。

3 胶类中药质量控制研究方向的思考

3.1 深入开展胶类药材中蛋白质的基础研究

胶类中药及杂皮胶的来源物种具有同源性, 化学性质相似, 主要成分均为胶原蛋白, 但基于物种基因差异性, 所表达的蛋白质存在一定差异。如通过在 Uniprot 和 NCBI 数据库下载的驴、马、牛、猪、羊的胶原蛋白 I 型 α_1 、 α_2 序列, 用 DNAMAN 软件进行对比, 发现 5 个物种 α_1 链相似度为 88.15%, α_2 链相似度为 97.6%, 由此可在差异序列中寻找可能的专属特征肽段作为检测靶标。除了胶原蛋白 I 型外, 胶类中药还含有其他蛋白质, 可以采用蛋白组学研究方法开展深入研究, 而目前尚缺乏驴、鹿和乌龟的全蛋白数据库, 因此在必要时可以进行 RNA-Seq 转录组测序, 以获取胶类药材所属物种完整的蛋白数据库, 来全面鉴定胶类药材中的蛋白质。在化学物质基础深入研究之上, 开展质量控制方法研究, 开发专属性更强、更加合理的方法来评价胶类中药质量。

3.2 建立多维度全面的质量控制体系加强对胶类中药的整体质量控制

《中国药典》中较为完善的质量标准项目通常包括炮制、性状、鉴别、检查、特殊检查和含量测定项。在药效物质基础尚不明确的情况下, 可以考虑选择主要成分蛋白质建立质量控制方法, 由于蛋白质本身以及原料氨基酸作为靶标成分缺乏专属性, 可以考虑以特征肽为靶标, 参考一般中药材质量控制研究思路, 建立特征图谱、杂皮胶掺假检查方法以及含量测定方法, 全面实现胶类中药的真伪鉴定和优劣评价。

随着胶类中药市场扩大、价格上涨, 杂皮胶掺

假现象日益严重,科研工作者需要广泛考虑可能的造假来源,马皮、骡皮、牛皮、猪皮、羊皮、废旧皮革等,及时开发专属性检查方法,防患于未然,从根本上保障人民饮食用药安全。

3.3 开发灵敏度高、专属性强的检测方法用于深加工产品中胶类药材的质量控制

胶类中药广泛应用于中药成方制剂及保健食品和食品中,有复方阿胶浆、阿胶糕、驴胶补血颗粒、阿胶蛋白粉等,组成十分复杂,例如复方阿胶浆含有熟地黄、当归、黄芪等传统补气血药材,阿胶糕中有核桃、黑芝麻、冰糖等辅料,胶类药材含量相对较低,质量控制难度大。目前质量标准相对落后,即食阿胶糕的企业标准中关于胶类药材质量控制规定仅有食品中蛋白质的测定,茚三酮反应鉴别氨基酸、多肽2项。成方制剂和食品中胶类中药检测质量标准提升,可以考虑将药材的质量标准用于到成方制剂和食品中。但是由于组成的复杂性,样品中前处理是一难点,如何从复杂基质中提取富集胶类中药、消除基质效应等,给科研工作者提出了新的挑战。

4 结语

胶类中药是传统中药的重要成员,随着人民生活水平提高,保健意识增强,其具有广大的市场前景。近年来,胶类中药质量标准不断提高,然而,面对高利润的诱惑,胶类中药制品造假现象仍时有发生,尚缺乏有效的检测方法,因此需要加强胶类中药化学物质基础与药效相关联的系统研究,同时充分利用现代分析检测技术和数据处理技术开发更精准的胶类中药质量控制体系。只有在深入的基础研究和有效的质量控制体系的基础上,才能更好地开发胶类中药相关产品,并从根本上保障广大人民群众的饮食及用药安全。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] Wang D, Ru W, Xu Y, et al. Chemical constituents and bioactivities of *Colla Corii Asini* [J]. *Drug Discov Therap*, 2014, 8(5): 201-207.
- [3] 中成药销售比化药还要猛? 看看 TOP10 榜单就知道了! [DB/OL]. [2017-07-28]. http://www.menet.com.cn/info/201707/201707280949404940_135495.shtml.
- [4] 夏文. 阿胶行业潜规则: 驴皮不够牛皮来凑 [J]. *农村·农业·农民 B*, 2016(9): 27-28.
- [5] 郭中坤, 王可洲, 籍国霞, 等. 阿胶的成分、鉴别方法及药理作用研究进展 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2015, 17(4): 71-74.
- [6] 刘晓帆. 龟甲、水蛭的品种与质量研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2013.
- [7] 鲍悦, 高久堂, 孙佳明, 等. 中药鹿角胶的研究进展 [J]. *吉林中医药*, 2016, 36(2): 173-175.
- [8] 王新雨, 谭晓梅, 陈飞龙, 等. HPLC-ELSD 法测定醋龟甲中羟脯氨酸 [J]. *中草药*, 2011, 42(7): 1338-1340.
- [9] 张怡评, 易瑞灶, 陈晖, 等. 离子色谱法测定鱼鳞胶原蛋白中羟脯氨酸含量方法的研究 [J]. *中国海洋药物*, 2011, 30(4): 45-48.
- [10] 徐冉驰, 刘力, 徐德生. 液-质联用法同时测定复方鹿角颗粒中 18 种氨基酸的含量 [J]. *中国医院药学杂志*, 2015, 35(19): 1719-1723.
- [11] 刘雯, 李峰, 杨建昕, 等. 一测多评法测定阿胶中 4 种氨基酸的含量 [J]. *中药材*, 2016, 39(5): 1090-1093.
- [12] 李婉斯, 李婷, 陆春怡, 等. 基于 HPLC 指纹图谱及聚类分析评价市售阿胶的质量 [J]. *上海中医药大学学报*, 2017, 31(6): 91-96.
- [13] 江东龙, 陈芳, 熊丹丹, 等. 柱前衍生化 HPLC 法同时测定龟甲胶中 14 种水解氨基酸含量 [J]. *药物分析杂志*, 2015, 35(10): 1790-1795.
- [14] 国家食品药品监督管理总局药品检验补充检验方法和检验项目批准件 [DB/OL]. [2012-07-16]. <http://old.hljda.gov.cn/show.aspx?newsid=16112&typeid=18>.
- [15] 佚名. 假阿胶如何现出原形 [J]. *中国药店*, 2007(10): 103-103.
- [16] Cheng X L, Wei F, Xiao X Y, 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): 191-195.
- [17] Xue L, Feng S, Gong L, et al. Species-specific identification of collagen components in *Colla Corii Asini* using a nano-liquid chromatography tandem mass spectrometry proteomics approach [J]. *Inter J Nanom*, 2017, doi: 10.2147/IJN.S136819.
- [18] 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): 826-829.
- [19] 唐敏, 严建业, 赵小芳, 等. UPLC-ESI-QTOF-MS 检测巴西龟龟甲胶中牛皮特征肽的研究 [J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2016, 18(12): 2165-2169.
- [20] 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, 2014.
- [21] 国锦琳, 叶茂, 童芯铎, 等. 一种阿胶的液质联用检测方法: 中国, CN106198783A [P]. 2016-12-07.
- [22] 程显隆, 陈佳, 李明华, 等. 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): 104-108.
- [23] 石 峰, 陈 晓, 巩丽萍, 等. 一组驴源性多肽及其在驴皮和阿胶胶定性检测中的应用流程: 中国, CN106589063A [P]. 2017-04-26.
- [24] 石 峰, 杭宝建, 迟连利, 等. 驴皮特征肽的发现及其在阿胶鉴别中的应用 [J]. 药物分析杂志, 2017, 37(12): 2272-2278.
- [25] Yang H, Shen Y, Xu Y, *et al.* A novel strategy for the discrimination of gelatinous Chinese medicines based on enzymatic digestion followed by nano-flow liquid chromatography in tandem with orbitrap mass spectrum detection [J]. *Int J Nanomedicine*, 2015, doi: 10.2147/IJN.S82291.eCollection 2015.
- [26] 张鸿伟, 张晓梅, 梁成珠, 等. 一组鉴别阿胶及其制品中驴源性成分的多肽: 中国, CN105842375A [P]. 2016-08-10.
- [27] 杭宝建, 邢 晟, 由鹏飞, 等. 一种猪源性特征肽及其猪皮和阿胶定性检测中的应用流程: 中国, CN106589114A [P]. 2017-04-26.
- [28] 巩丽萍, 石 峰, 李 雪, 等. 一种羊特征性多肽及其应用: 中国, CN106093244A [P]. 2016-11-09.
- [29] 王若光, 尤昭玲, 刘小丽, 等. 基于激光解析/离子化-飞行时间质谱技术的中药阿胶蛋白质组分析 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(13): 2518-2521.
- [30] 李春梅, 王若光, 王陆颖, 等. 基于激光解析/离子化飞行时间质谱技术的中药龟甲胶蛋白质组分析 [J]. 湖南中医药大学学报, 2007, 27(6): 2123-2129.
- [31] 汪 冰, 肖新月, 程显隆, 等. 凝胶排阻色谱法研究阿胶中蛋白质及多肽相对分子质量分布规律 [J]. 药物分析杂志, 2009, 29(11): 1886-1891.
- [32] 常冰玉, 陈茂深, 郝向慧, 等. 9 种市售阿胶蛋白质特性比较分析 [J]. 食品与机械, 2016, 32(8): 206-210.
- [33] 刘艳艳, 张全芳, 卞如如, 等. 利用多重荧光定量 PCR 检测阿胶原料驴、马、驴骡和马骡皮张的源性 [J]. 药学研究, 2016, 35(10): 569-574.
- [34] 罗晖明, 肖炳燊, 聂 平, 等. 阿胶原料驴源性成分的 DNA 分子鉴别方法 [J]. 药物分析杂志, 2017, 37(2): 202-211.
- [35] Zuo H L, Zhao J, Wang Y T, *et al.* Identification of the adulterated *asinini Corii Colla* with cytochrome c oxidase subunit I gene-based polymerase chain reaction [J]. *Pharmacog Res*, 2017, 9(4): 313-318.
- [36] Yang Y, He J, Huang Z, *et al.* Analysis of hexavalent chromium in *Colla Corii asini*, with on-line sample pretreatment valve-switching ion chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2013, 1305(1): 171-175.
- [37] 迟少云, 王 超, 裴 琳. 阿胶类保健食品中 4 种有害元素的检测与分析 [J]. 中国卫生检验杂志, 2015, 25(23): 4024-4026.
- [38] 董自亮, 徐瑞超, 原欢欢, 等. 微波消解-石墨炉原子吸收法测定阿胶中 6 种微量元素含量 [J]. 中药与临床, 2015, 6(6): 11-13.
- [39] 孙大赢. 微波消解和电感耦合等离子体质谱法测定阿胶中 6 种有害元素 [J]. 中国药业, 2015, 24(7): 53-54.
- [40] Li W L, Han H F, Zhang L, *et al.* Manufacturer identification and storage time determination of "Dong'e Ejiao" using near infrared spectroscopy and chemometrics [J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2016, 17(5): 382-390.
- [41] Dong W W, Zeng Z D, Au D, *et al.* Quality control of *Colla Corii Asini* using near-infrared spectroscopy and chemometrics clustering techniques [J]. *J Food Drug Anal*, 2012, 20(1): 152-158.
- [42] 刘晓倩, 魏纪平, 王俊全, 等. 基于 SVM 对不同品牌阿胶的聚类分析 [J]. 食品研究与开发, 2017, 38(7): 130-132.
- [43] 于海英. 阿胶等胶剂脂溶性成分 HPLC 指纹图谱研究 [D]. 济南: 山东大学, 2009.
- [44] 余远斌, 舒 畅, 肖作兵, 等. GC-MS/GC-O 结合化学计量学方法研究不同产地阿胶的关键香气组分 [J]. 现代食品科技, 2016, 32(2): 269-275.
- [45] 胡晶红, 张永清, 丁代兄. 我国阿胶原料动物驴的种质资源概况 [J]. 中国现代中药, 2013, 15(5): 388-393.
- [46] Wu H, Ren C, Yang F, *et al.* Extraction and identification of collagen-derived peptides with hematopoietic activity from *Colla Corii Asini* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, doi: 10.1016/j.jep.2016.02.019.
- [47] Park K I, Lee M R, Oh T W, *et al.* Antibacterial activity and effects of *Colla Corii Asini* on *Salmonella typhimurium* invasion *in vitro* and *in vivo* [J]. *BMC Complem Altern Med*, 2017, doi: 10.1186/s12906-017-2020-9.
- [48] Li Y, He H, Yang L, *et al.* Therapeutic effect of *Colla Corii Asini* on improving anemia and hemoglobin compositions in pregnant women with thalassemia [J]. *Inter J Hematol*, 2016, 104(5): 559-565.
- [49] 张飘飘, 凌亚豪, 阎晓丹, 等. 阿胶对人工细颗粒物所致大鼠呼吸系统损伤的保护作用 [J]. 癌变·畸变·突变, 2017, 29(5): 346-351.