

# 基于化学标识物的特征多肽技术在鹿源药材区分与鉴别中的应用研究

祝玉卓<sup>1,2</sup>, 薛菲<sup>2</sup>, 焦阳<sup>1,2</sup>, 崔伟亮<sup>2</sup>, 陈娟<sup>1,2</sup>, 汪冰<sup>1,2\*</sup>, 林永强<sup>1,2\*</sup> (1. 山东中医药大学, 济南 250355; 2. 山东省食品药品检验研究院, 国家药监局胶类产品质量评价重点实验室, 山东省中药标准创新与质量评价工程实验室, 中药配方颗粒共性技术山东省工程研究中心, 济南 250101)

**摘要:** **目的** 基于化学标识物概念, 通过特征多肽分析方法, 实现对鹿茸、鹿角、鹿角霜和鹿皮 4 种不同部位来源的鹿源药材的精准区分。 **方法** 比较了 2 种提取溶剂体系对 4 种不同部位来源的鹿源药材提取效率, 优化样品最佳酶解条件, 形成高效、简便的样品前处理流程。结合化学标识物理念和特征多肽分析方法, 采用液相色谱-三重四极杆质谱及质谱多反应监测技术 (MRM), 建立一套针对 4 种不同部位鹿源药材的专属性鉴别方法, 并进行方法学实验。 **结果** 优化后的样品前处理方法提取效率高、酶解效果好, 24 个批次的样品均成功检测到相应的特征多肽离子对。 **结论** 本研究建立的鹿源药材区分与鉴别方法, 具有高专属性、灵敏度和耐用性, 能够有效用于鹿源药材的质量评价, 为确保和提升鹿源药材的质量提供参考。

**关键词:** 化学标识物; 特征多肽; 鹿源药材; 液质联用技术; 多反应监测

doi: 10.11669/cpj.2024.22.004 中图分类号: R282 文献标志码: A 文章编号: 1001-2494(2024)22-2126-06

## Application Research of Characteristic Polypeptide Technology Based on Chemical Markers in Distiguishment and Identification of Deer-derived Medicinal Materials

ZHU Yuzhuo<sup>1,2</sup>, XUE Fei<sup>2</sup>, JIAO Yang<sup>1,2</sup>, CUI Weiliang<sup>2</sup>, CHEN Juan<sup>1,2</sup>, WANG Bing<sup>1,2\*</sup>, LIN Yongqiang<sup>1,2\*</sup> (1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China; 2. NMPA Key Laboratory for Quality Evaluation of Gelatin Products, Shandong Engineering Laboratory for Standard Innovation and Quality Evaluation of TCM, Shandong Engineering Research Center for Generic Technologies of Traditional Chinese Medicine Formula Granules, Shandong Institute for Food and Drug Control, Jinan 250101, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To accurately distinguish deer-derived medicinal materials from four different position; Cervi Cornu Pantotrichum, Cervi Cornu, Cervi Cornu Degelatinatum and Deer hide. **METHODS** The extraction efficiency of two extraction solvent systems for four different kinds of deer-derived medicinal materials was compared, and the optimum enzymatic hydrolysis conditions of the samples were optimized to form an efficient and simple sample pretreatment process. A specific analysis method, combining chemical markers and characteristic polypeptides was established to identify four different position of deer-derived medicinal materials by using liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry and mass spectrometry multi-reaction monitoring technology (MRM). And methodological experiments were conducted as part of this analysis method. **RESULTS** The optimized sample pretreatment method with high extraction efficiency and good enzymatic effect was successfully applied, and the corresponding characteristic polypeptide ion pairs were successfully detected in 24 batches of samples. **CONCLUSION** The distinction and identification method with high-level specificity, sensitivity and robustness of deer-derived medicinal materials were established. The innovative analysis method can be effectively used to evaluate the quality of deer-derived medicinal materials, which provides a reference for ensuring and improving the quality of deer-derived medicinal materials.

**KEY WORDS:** chemical marker; characteristic polypeptide; deer-derived medicinal material; LC-MS; MRM

鹿茸为雄性梅花鹿 (*Cervus nippon* Temminck) 或马鹿 (*Cervus elaphus* Linnaeus) 密生茸毛未骨化的幼角, 鹿角为二者已骨化的角或角托盘; 鹿角霜为鹿角熬去胶质干燥后剩余的角块和粉末; 鹿皮为梅花鹿

或马鹿的皮。上述 4 种药材中鹿茸、鹿角和鹿角霜是源自鹿角的药材, 均为《中国药典》2020 年版中收录的名贵药材<sup>[1]</sup>; 鹿皮首载于《本草纲目》<sup>[2]</sup> 中, 常作为鹿角胶制备过程中的伪品原料。由于四者采收

**基金项目:** 国家重点研发计划 (中医药现代化) 课题资助 (2023YFC3504102); “新高校 20 条” 科研带头人工作室项目资助 (202228096); 泉城产业领军人才支持计划创新团队项目资助 (MRJT2105)

**作者简介:** 祝玉卓, 女, 硕士研究生 研究方向: 药物分析 \* **通讯作者:** 林永强, 男, 博士, 主任药师 研究方向: 中药质量控制关键技术研究 Tel: (0531) 81216503; 汪冰, 女, 硕士, 主任药师 研究方向: 中药质量控制与产业化 Tel: (0531) 81216521

时期和加工工艺不同,其疗效及药用活性也存在一定差别。鹿茸主要功效为强肾壮阳、益精血、强筋骨等<sup>[3]</sup>,鹿角主要用于温肾壮阳、行血消肿、强筋壮骨等<sup>[4-5]</sup>;鹿角霜主要侧重于调理脾肾虚所致白带过多,遗尿频等;鹿皮能治妇女白带异常、月经过多、各种疮疡。由此可见,四者不可任意添加和使用。虽然以上四种药材均来源于鹿,但流通市场的价格悬殊较大,掺伪使假现象常有发生,且其衍生产品如鹿角胶、龟鹿二仙膏、人参鹿茸丸等的投料部位难以鉴别。目前,有研究通过 DNA 分子鉴定技术<sup>[6-7]</sup>、十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)<sup>[8]</sup>和 HPLC 图谱<sup>[9-10]</sup>等技术来区分鹿源药材及其加工品,但受限于药材之间的同源性,以上技术只能达到亲属级别的鉴定,而无法细致区分具体部位。

2020 年, Lin 等<sup>[11]</sup>提出了化学标识物概念,即寻找来源某药材(饮片)特有的而不是来源于其他药材的化学物质作为化学标识物,用于中药的真伪鉴别以及质量控制。特征多肽<sup>[12]</sup>作为在特定物种中唯一存在的多肽类成分,符合作为鉴别鹿源药材的化学标识物的要求。笔者认为,基于特征多肽的分析检测技术<sup>[13]</sup>为原药材鉴定提供了一种精确的

方法,使得样品部位间的鉴定成为可能。课题组在前期研究中,依托化学标识物的概念,已成功鉴定出鹿茸和鹿角胶中具有物种特异性的特征多肽。然而这些发现是否同样适用于鹿茸、鹿角、鹿角霜和鹿皮药材的鉴别,尚未进行深入探讨。本研究基于化学标识物概念,采用液质联用技术,深入考察了样品前处理方法,并进行了方法学实验,旨在建立一套简便高效的鉴别方法,实现鹿茸、鹿角、鹿皮和鹿角霜 4 种鹿源药材的有效区分。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

AB SCIEX Triple Quad 6500 + 高效液相色谱质谱联用仪(美国 AB Sciex 公司);高速离心机(DT-NAMICA 公司);水浴恒温振荡器(江苏金坛市中大仪器厂);Climace1222 型恒温恒湿箱(德国 MMM 公司);XSE205 电子天平(德国赛多利斯公司)。

### 1.2 材料

所收集样品信息见表 1。所有样品均经过山东省食品药品检验研究院汪冰药师鉴定,均为正品。本实验使用的特征多肽离子信息见表 2<sup>[14]</sup>。

表 1 鹿源药材样品信息

Tab. 1 Sample information of deer-derived medicinal materials

No.	Position of deer	Place of origin (in Chinese)	Species
R1	Cervi Cornu Pantotrichum	Anguo Hebei (河北安国)	<i>Cervus elaphus</i> Linnaeus
R2	Cervi Cornu Pantotrichum	Anguo Hebei (河北安国)	<i>Cervus elaphus</i> Linnaeus
R3	Cervi Cornu Pantotrichum	Bozhou Anhui (安徽亳州)	<i>Cervus elaphus</i> Linnaeus
R4	Cervi Cornu Pantotrichum	Bozhou Anhui (安徽亳州)	<i>Cervus elaphus</i> Linnaeus
R5	Cervi Cornu Pantotrichum	Bozhou Anhui (安徽亳州)	<i>Cervus elaphus</i> Linnaeus
R6	Cervi Cornu Pantotrichum	Jinan Shandong (山东济南)	<i>Cervus nippon</i> Temminck
R7	Cervi Cornu Pantotrichum	Yantai Shandong (山东烟台)	<i>Cervus elaphus</i> Linnaeus
R8	Cervi Cornu Pantotrichum	Yantai Shandong (山东烟台)	<i>Cervus elaphus</i> Linnaeus
R9	Cervi Cornu Pantotrichum	Dongying Shandong (山东东营)	<i>Cervus nippon</i> Temminck
R10	Cervi Cornu Pantotrichum	Dongying Shandong (山东东营)	<i>Cervus nippon</i> Temminck
J1	Cervi Cornu	Zhumadian Henan (河南驻马店)	<i>Cervus elaphus</i> Linnaeus
J2	Cervi Cornu	Tieling Liaoning (辽宁铁岭)	<i>Cervus elaphus</i> Linnaeus
J3	Cervi Cornu	Liaocheng Shandong (山东聊城)	<i>Cervus elaphus</i> Linnaeus
J4	Cervi Cornu	Liaocheng Shandong (山东聊城)	<i>Cervus elaphus</i> Linnaeus
J5	Cervi Cornu	Huanggang Hubei (湖北黄冈)	<i>Cervus elaphus</i> Linnaeus
J6	Cervi Cornu	Dongying Shandong (山东东营)	<i>Cervus nippon</i> Temminck
J7	Cervi Cornu	Zhumadian Henan (河南驻马店)	<i>Cervus nippon</i> Temminck
P1	Deer hide	Bozhou Anhui (安徽亳州)	<i>Cervus elaphus</i> Linnaeus
P2	Deer hide	Bozhou Anhui (安徽亳州)	<i>Cervus elaphus</i> Linnaeus
P3	Deer hide	Bozhou Anhui (安徽亳州)	<i>Cervus elaphus</i> Linnaeus
P4	Deer hide	Bozhou Anhui (安徽亳州)	<i>Cervus elaphus</i> Linnaeus
S1	Cervi Cornu Degelatinatum	Bozhou Anhui (安徽亳州)	None
S2	Cervi Cornu Degelatinatum	Bozhou Anhui (安徽亳州)	None
S3	Cervi Cornu Degelatinatum	Bozhou Anhui (安徽亳州)	None

表2 特征多肽的来源、序列和离子对信息<sup>[14]</sup>

Tab. 2 Source, sequence and ion pair information of characteristic polypeptide<sup>[14]</sup>

No.	Sequence	Protein attribution	m/z(Q1)	Charge	m/z(Q3)	m/z(Q3)
Pep 1	GETGPAGRpGEVGPpGPpPAGEK	Collagen α-1	739.36	2	938.46	1 053.52
Pep 2	SGETGASGPpGFAGE	Collagen α-2	732.84	2	875.43	1 090.51
Pep 3	GPpGESGAAGPAGPICSR	Collagen α-2	775.89	2	541.26	965.44
Pep 4	TGQPGAVGPAGIR	Collagen α-2	590.83	2	797.47	287.14
Pep 5	TPVGGQPSVPGGPVR	α-2-HS-glycoprotein	702.88	2	865.49	1 107.59
Pep 6	FFEHFCDLSTADAVMGPNK	Adult β-globin	700.32	2	562.26	244.17
Pep 7	DLSFLPQPPQEK	Collagen α-1	699.87	2	598.32	501.24

胰蛋白酶(批号:1003494581, Sigma公司), 盐酸胍、三羟甲基氨基甲烷(Tris)、乙二胺四乙酸(EDTA)、碳酸氢铵(分析纯), 二硫苏糖醇(DTT)(批号:P1694590, 上海泰坦科技有限公司), 碘乙酰胺(IAA)(批号:E1915029, 阿拉丁试剂有限公司), 甲酸、乙腈(色谱纯), Agilent SB C<sub>18</sub> RRHD 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm)、Thermo SCIENTIFIC Accucore™ C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 2.6 μm)、Waters CORTECS™ UPLC<sub>18</sub> 色谱柱(3.0 mm × 100 mm, 1.6 μm)。

## 2 方法

### 2.1 样品前处理方法考察

**2.1.1 样品提取溶剂考察** 将鹿茸、鹿角、鹿角霜、去毛后鹿皮样品锉成细粉, 称取2份样品粉末, 每份40 mg; 分别精密加入变性缓冲液(6 mol · L<sup>-1</sup> 盐酸胍, 1 mol · L<sup>-1</sup> Tris, 2.5 mmol · L<sup>-1</sup> EDTA) 或体积分数1% NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> 溶液2 mL, 90 °C 水浴震荡提取4 h, 冷却至室温, 离心; 取上清液, 用0.22 μm 滤头滤过, 取滤液500 μL, 加水500 μL 混匀, 置3k 超滤管中, 12 000 r · min<sup>-1</sup> 离心10 min, 上清液再次加水500 μL, 重复离心一次, 备用。

**2.1.2 样品酶解时间考察** 吸取“2.1.1”项下样品上清液100 μL 和水100 μL 置进样瓶中, 选择酶活性 > 10 000 BAEE units · mg<sup>-1</sup> 的胰酶, 加入10 mg · mL<sup>-1</sup> 胰酶5 μL, 使酶底比为1:40, 吹打均匀, 置于37 °C 样品进样盘中反应。

**2.1.3 样品加酶量考察** 取3个进样瓶, 分别加入“2.1.1”项下样品上清液100 μL 和水100 μL, 混匀后分别加入10 mg · mL<sup>-1</sup> 胰酶5、10、20 μL, 分别对应酶底比为1:40、1:20、1:10, 将其置于37 °C 恒温恒湿箱中反应3 h。

### 2.2 色谱及质谱条件

液相条件: 色谱柱为 Agilent SB C<sub>18</sub> RRHD

(2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm), 柱温43 °C, 流速0.3 mL · min<sup>-1</sup>, 流动相A为体积分数0.1% 甲酸溶液, B为乙腈溶液, 进行梯度洗脱(0~7 min, 8% → 12% B; 7~11 min, 12% → 22% B; 11~18 min, 22% → 40% B; 18~23 min, 40% → 90% B; 23~23.5 min, 90% → 8% B; 23.5~28 min, 8% B), 进样量为5 μL。

质谱条件: 采用三重四极杆质谱检测器, 电喷雾离子源(ESI), 正离子模式下, 进行多反应监测; 离子源喷雾气流速40 μL · min<sup>-1</sup>; 辅助加热气流速40 μL · min<sup>-1</sup>; 离子化电压5.5 kV; 离子源温度550 °C; 锥孔电压47 V, 碰撞电压80 V。

### 2.3 方法学考察

**2.3.1 专属性** 分别提取 Pep 5 和 Pep 6 离子流图谱对24批次鹿源药材样品进行专属性检测。

**2.3.2 耐用性** 采用3种不同品牌色谱柱考察 Pep 1 ~ Pep 7 的耐用性, 分别为 Agilent SB C<sub>18</sub> RRHD 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm)、Thermo SCIENTIFIC Accucore™ C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 2.6 μm)、Waters CORTECS™ UPLC<sup>®</sup> C<sub>18</sub> 色谱柱(3.0 mm × 100 mm, 1.6 μm)。

## 3 结果

### 3.1 样品提取溶剂考察

分别在盐溶剂体系(6 mol · L<sup>-1</sup> 盐酸胍, 1 mol · L<sup>-1</sup> Tris, 2.5 mmol · L<sup>-1</sup> EDTA) 和水溶剂体系(体积分数1% NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> 溶液) 下提取样品, 表2为特征多肽离子流色谱图, 对其峰型、响应值和峰面积进行分析和比较。结果以 Pep 6 变化最为显著, 体积分数1% NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> 溶液提取物的 Pep 6 峰面积远远小于变性缓冲液提取物, 结果见图1。因此, 本实验选用盐溶剂体系为提取溶剂, 90 °C 水浴震荡提取4 h 为提取方法。

### 3.2 酶解条件考察

以 Pep 2、Pep 5 和 Pep 6 作为考察对象, 筛选

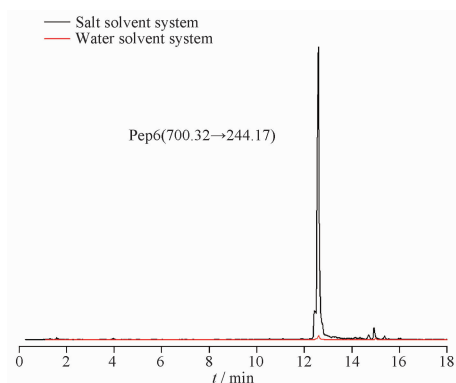


图1 提取溶剂对特征多肽提取效率的影响结果(以 Pep 6 为例)

Fig.1 Effect of solvent system(taking Pep6 as an example) on extraction efficiency of characteristic polypeptides

特征多肽的稳定平衡期,特征多肽在不同酶解时间、不同加酶量下的变化趋势见图 2~3。结果显示,在前 180 min 特征多肽峰面积随酶解时间延长而逐渐增加;在 180~270 min 内,Pep 2、Pep 5、Pep 6 峰面积有小幅上升,几乎趋于稳定。因此,为节约时间成本,确定酶解时间为 180 min。随着加酶量的增加,仅有 Pep 2 峰面积上升,为减少蛋白酶对特征多肽的影响,因此选择加酶量为 5  $\mu\text{L}$ 。

### 3.3 鹿茸、鹿角、鹿角霜、鹿皮鉴别方法的建立

各特征多肽检测结果见图 4。Pep 1、Pep 2、Pep 3、Pep 4 和 Pep 7 在鹿茸、鹿角、鹿皮均被检测到,为三者共有特征多肽。但由于鹿角霜经过长时间煎煮,因已除去大部分胶质物质,其蛋白类物质含量较少;另外,不同厂家的制备工艺存在差异,上述 5 个特征多肽在鹿角霜未能全部检测到。Pep 5 同时在鹿茸、鹿角和鹿角霜药材中被检测到,但在鹿皮中未被检测到;表明 Pep 5 为鹿角类药材的专属性特征多肽;同时,鹿角霜中检测到 Pep 5 也说明其具有一定耐高温特征。Pep 6 在梅花鹿茸和马鹿茸中被显著检测到,在未骨化完全的鹿角可被检测到,但在鹿皮和鹿角霜中均未被检测到;因此,可通过 Pep 6 来区分鹿茸与鹿角、鹿角霜、鹿皮药材。综上所述,4 种鹿源药材的判定原则如下:若样品可检出 Pep 1、Pep 2、Pep 3、Pep 4、Pep 5、Pep 6、Pep 7 特征离子峰时,则认为样品为鹿茸;若可检出 Pep 1、Pep 2、Pep 3、Pep 4、Pep 5、Pep 7 特征离子峰而未检出 Pep 6 特征离子峰,则认为样品为鹿角;若可检出 Pep 1、Pep 2、Pep 3、Pep 4、Pep 7 特征峰,且未检出 Pep 5 和 Pep 6 特征峰时,

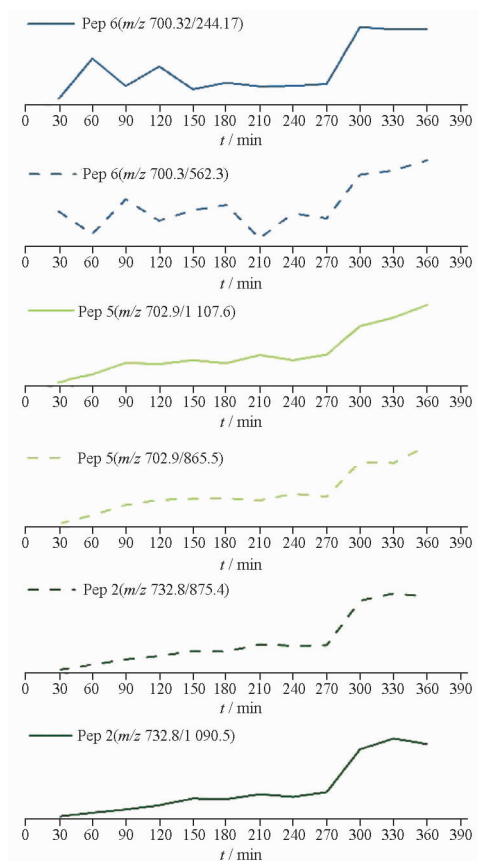


图2 酶解时间对特征多肽溶出稳定性影响结果

Fig.2 Effect of solvent system(taking Pep6 as an example) on extraction efficiency of characteristic polypeptides

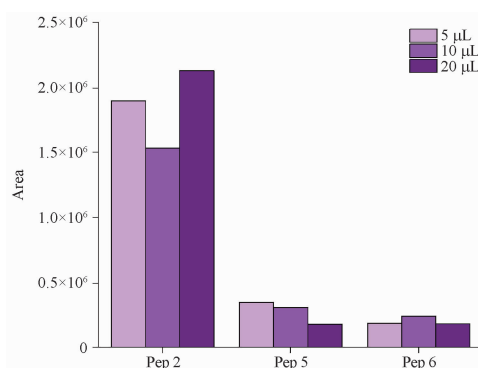


图3 加酶量对特征多肽溶出稳定性的影响结果

Fig.3 Effect of enzyme dosage on the dissolution stability of characteristic polypeptide

则认为样品为鹿皮;当样品中可检出 Pep 5 特征峰,则认为样品为鹿角霜。

### 3.4 样品检测结果

将该方法应用于所有批次样品中,按“3.3”项下判定原则,分别提取各特征多肽的离子流图谱。结果发现所有批次鹿茸样品均可检测到 Pep 1~Pep 7,所有批次鹿角样品中均可检测到 Pep 1、Pep 2、Pep 3、

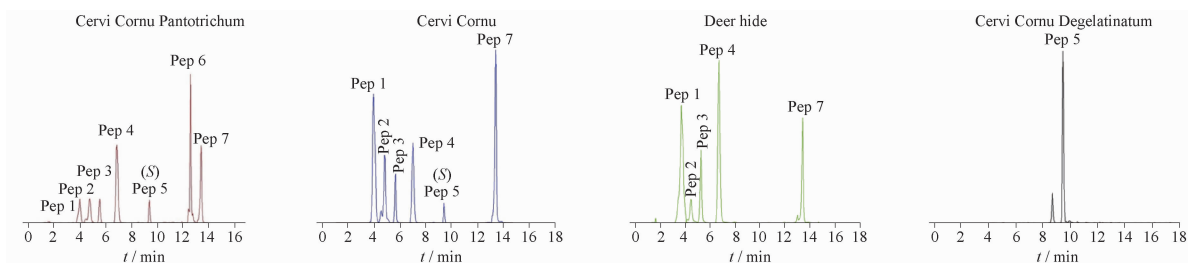


图4 特征多肽离子对在鹿茸、鹿角、鹿皮、鹿角霜中的检出结果

Fig. 4 The detection results of characteristic polypeptide ion pairs in Cervi Cornu Pantotrichum, Cervi Cornu, Deer hide and Cervi Cornu Degelatinatum

Pep 4、Pep 5、Pep 7, 其中 J2 批次鹿角可检测到 Pep 6, 推测其可能为未骨化完全的鹿角; 所有批次的鹿茸、鹿角和鹿角霜样品均可检测到 Pep 5; 所有批次的鹿皮样品中均可检测到 Pep 1、Pep 2、Pep 3、Pep 4 和 Pep 7。

### 3.5 方法学考察

**3.5.1 专属性** Pep 5 仅在鹿茸、鹿角和鹿角霜样品中被检测到, 未在鹿皮样品中检测到, 见图 5; Pep 6 仅在鹿茸样品中检测到, 未在鹿角、鹿角霜和鹿皮样品中检测到; 结果表明该方法专属性良好。

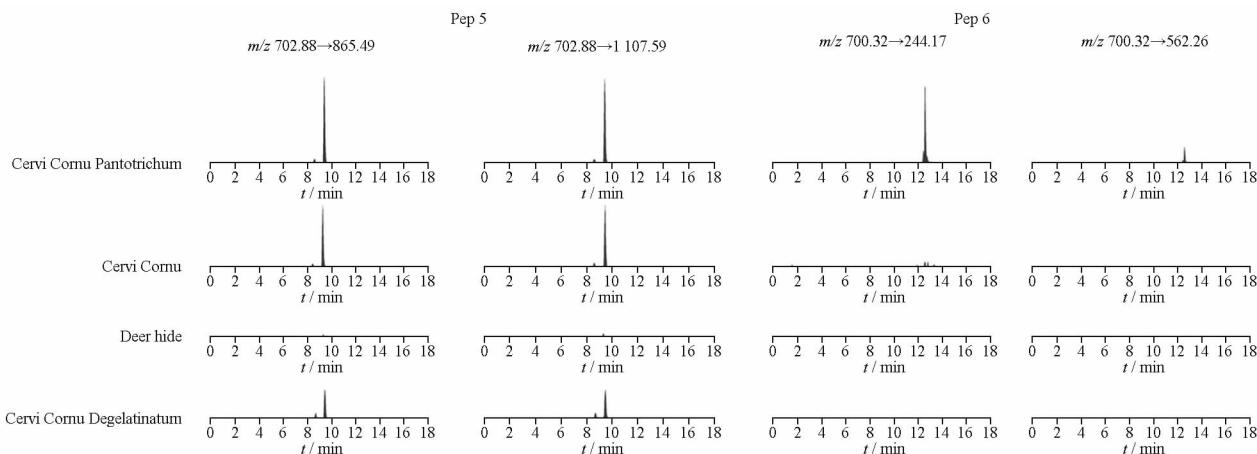


图5 Pep 5 和 Pep 6 专属性验证结果

Fig. 5 Specificity verification results of Pep 5 and Pep 6

**3.5.2 耐用性** 耐用性检测结果见表 3, 3 种色谱柱均具有明显分离差异, 表明该方法耐用性良好。

## 4 讨论

首先, 本实验通过考察盐溶剂体系和水溶剂体系探索特征多肽在提取过程中的影响。盐溶液常用于蛋白变性, 具有较稳定的 pH, 能较好维持蛋白结构和活性, 但常常伴有毒性; 水溶液无毒无害, 普遍用于提取胶原蛋白, 但水溶剂往往会破坏蛋白结构, 所得蛋白含量稍低。因此, 选择合适的提取溶剂至关重要。本实验结果显示, 盐溶剂提取体系提取效率较高, 其所得提取物的各特征多肽离子对峰型和响应值均优于水溶剂提取体系。笔者认为主要原因有以下两点: 一是受到高温加热, 鹿茸中大量血蛋白

被破坏; 二是水溶剂张力过大, 血蛋白聚团凝结, 蛋白结构受到破坏<sup>[15]</sup>。实验结果证明了盐溶剂提取体系能提取出鹿源药材中的大量蛋白和多肽类物质。其次, 酶解条件是得到较为稳定特征多肽的关键因素, 本实验考察了不同酶解时间和不同加酶量下各特征多肽的变化情况, 优化所得的样品前处理方法可成功应用于 4 种不同部位的鹿源药材。

此外, 本实验中各特征多肽专属性和耐用性良好, 可通过 Pep 6 的检出情况判定样品是否为鹿茸, 可通过 Pep 5 的检出情况判定样品是否为鹿角类药材, 可精确高效地区分源于不同部位的 4 种鹿源药材。

综上所述, 本实验基于化学标识物和特征多肽分析方法, 采用液质联用技术建立了一种可有效区分鹿茸、鹿角、鹿角霜、鹿皮 4 种鹿源药材的方法。

表3 方法学耐用实验结果

Tab.3 The results of durability test in methodology verification

Characteristic polypeptide ion pairs	Retention time of different chromatographic columns		
	Agilent SB C <sub>18</sub> RRHD	Thermo SCIENTIFIC	Waters
		Accucore™ C <sub>18</sub>	CORTECS™ UPLC® C <sub>18</sub>
739.36→938.46	3.90 ± 0.5	1.95 ± 0.5	4.36 ± 0.5
739.36→1 053.52	3.90 ± 0.5	1.95 ± 0.5	4.36 ± 0.5
732.84→875.43	4.76 ± 0.5	2.79 ± 0.5	5.77 ± 0.5
732.84→1 090.51	4.76 ± 0.0	2.79 ± 0.5	5.77 ± 0.5
775.89→541.26	5.57 ± 0.5	3.13 ± 0.5	6.20 ± 0.5
775.89→965.44	5.57 ± 0.5	3.13 ± 0.5	6.20 ± 0.5
590.83→797.47	6.96 ± 0.5	4.08 ± 0.5	7.70 ± 0.5
590.83→287.14	6.96 ± 0.5	4.08 ± 0.5	7.70 ± 0.5
702.88→865.49	9.39 ± 0.5	6.13 ± 0.5	9.54 ± 0.5
702.88→1 107.59	9.39 ± 0.5	6.13 ± 0.5	9.54 ± 0.5
700.32→562.26	12.58 ± 0.5	11.45 ± 0.5	13.08 ± 0.5
700.32→244.17	12.58 ± 0.5	11.45 ± 0.5	13.08 ± 0.5
699.87→598.32	13.37 ± 0.5	12.12 ± 0.5	13.91 ± 0.5
699.87→501.24	13.37 ± 0.5	12.12 ± 0.5	13.91 ± 0.5

REFERENCES

[ 1 ] Ch. P(2020) Vol I (中国药典2020年版.一部) [S]. 2020; 335.  
 [ 2 ] LI S Z. *Compendium of Materia Medica* (本草纲目)[M]. Nanchang:21st Century Publishing House, 2014.  
 [ 3 ] SUI Z, ZHANG L, HUO Y, et al. Bioactive components of Velvet Antlers and their pharmacological properties [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2014, 87(2014): 229-240.  
 [ 4 ] WU F, LI H, JIN L, et al. Deer Antler base as a traditional Chinese medicine: a review of its traditional uses, chemistry and pharmacology [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 145(2): 403-415.  
 [ 5 ] XIA P, LIU D, JIAO Y, et al. Health effects of peptides extracted from Deer Antler [J]. *Nutrients*, 2022, 14(19): 4183-

4201.  
 [ 6 ] QIAN R, TIAN N, ZHANG X Y, et al. Identification of Cervi Cornu Pantotrichum and Cervi Cornu by allele-specific PCR [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*(中国实验方剂学杂志), 2019, 25(17):118-123.  
 [ 7 ] ZHOU R Q, HAI F, HU J H, et al. Identification of Cervi Cornu (*Cervus elaphus*) and its formula granules based on PCR-RFLP [J]. *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2024, 49(6):1517-1525.  
 [ 8 ] HUANG Y, CHANG L, ZHANG S W, et al. Application of electrophoresis technology in identification of Antler and Antler [J]. *J Shenyang Pharm Univ*(沈阳药科大学学报), 2017, 34(11):999-1005.  
 [ 9 ] JIN F, ZHANG S, ZHAO M, et al. Research on HPLC fingerprint of Antler with different specifications [J]. *J Shenyang Pharm Univ*(沈阳药科大学学报), 2023, 40(10):1329-1336.  
 [ 10 ] ZHAO H P, YAO M J, XU Y, et al. Establishment of classification method for dividing Velvet Antler portions based on tissue structures and ratio of protein to calcium content [J]. *Chin Tradit Herb Drug*(中草药), 2022, 53(5):1518-1527.  
 [ 11 ] LIN Y Q, LIN L, JIAO Y, et al. Research and application of chemical marker based on Q-marker theory [J]. *Chin Pharm J*(中国药学杂志), 2020, 55(2):161-166.  
 [ 12 ] XUE F, YU Y M, GUO D X, et al. Discovery and specificity verification of characteristic peptides for Cervi Cornu Colla [J]. *Chin Pharm J*(中国药学杂志), 2022, 57(23):1998-2003.  
 [ 13 ] DONG H S, ZHANG J X, HU Q, et al. Research progress on quality control of gelatinous Chinese materia medica [J]. *Chin Tradit Herb Drug*(中草药), 2018, 49(13):3166-3173.  
 [ 14 ] XUE F, WANG B, GUO D X, et al. Discovery of species-specific peptide markers and development of quality-evaluation strategies for Deer Horn gelatin using liquid chromatography-tandem mass spectrometry and a label-free methodology [J]. *J Chromatogr A*, 2023, 1705(2023):464153-464164.  
 [ 15 ] RUAN H N, LUO J C, WANG Z Y, et al. Study on comprehensive extraction process of various water-soluble effective parts in Velvet Antler [J]. *Chin J Vet Med*(中国兽医杂志), 2021, 57(3):93-97.

(收稿日期:2024-03-26)