盐酸半胱氨酸化学发光探针的合成及其在复方氨基酸注射液检测中的应用

李　明，徐海云，赵开楼*
（河南应用技术职业学院，河南郑州 450042）

摘要：为检测复方氨基酸注射液中的盐酸半胱氨酸，本研究首先合成了 γ-Al_2O_3/SiO_2 核壳结构吸附剂，利用等电点差异对盐酸半胱氨酸进行预分离富集。其次合成了一种化学发光探针，可实现对盐酸半胱氨酸的专属性检测。试验结果表明，采用等电点法对盐酸半胱氨酸进行预分离富集，并结合化学发光探针可实现复方氨基酸注射液中盐酸半胱氨酸的快速分离检测，具有良好的选择性和灵敏度，且样品前处理操作简单。当发光反应液 pH 值为 12.5、发光探针浓度为 1.5×10^{-4} mol/L、H_2O_2 体积分数为 0.3%，Cr^{3+} 浓度为 2.5×10^{-4} mol/L 时，盐酸半胱氨酸在 1 ～ 20 μg/ml 内与化学发光强度呈现良好的线性关系，且方法具有良好的重复性和重现性，为复方氨基酸注射液中盐酸半胱氨酸的快速检测提供了参考。

关键词：盐酸半胱氨酸；复方氨基酸注射液；化学发光；流动注射
中图分类号：R917　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2022)03-0378-06
DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2022.03.015

Synthesis of Cysteine Hydrochloride Chemiluminescent Probe and Its Application in Detection of Compound Amino Acid Injection

LI Ming, XU Haiyun, ZHAO Kailou*
(*Henan Technical Institute, Zhengzhou 450042*)

ABSTRACT: In order to detect the cysteine hydrochloride in compound amino acid injection, γ-Al_2O_3/SiO_2 core-shell structure adsorbent was synthesized in this study, and cysteine hydrochloride was pre-separated and enriched by isoelectric point difference. In addition, a chemiluminescent probe was synthesized that could achieve the specific detection of cysteine hydrochloride. The test results showed that the pre-separation and enrichment of cysteine hydrochloride by isoelectric point method, combined with chemiluminescent probe, could realize the rapid separation and detection of cysteine hydrochloride in compound amino acid injection. And the method had good selectivity and sensitivity, with a simple preparation of sample. It was linear for cysteine hydrochloride with the luminous intensity in the range of 1 – 20 μg/ml, with the pH value of the luminescence solution was 12.5, the concentration of chemiluminescent probe was 1.5×10^{-4} mol/L, the volume fraction of H_2O_2 was 0.3%, and the concentration of Cr^{3+} was 2.5×10^{-4} mol/L. The method had good repeatability and reproducibility, which provided a reference for the rapid detection of cysteine hydrochloride in compound amino acid injection.

Key Words: cysteine hydrochloride; compound amino acid injection; chemiluminescence; flow injection

复方氨基酸注射液适用于低体质量儿、早产儿及各种病因所致蛋白质摄入不足、吸收障碍等氨基酸不能满足机体代谢需要的患者，或各种不能经口摄食或摄食不足的急、慢性营养不良小儿的营养补充[1]，广泛应用于临床治疗各种创伤、烧伤、外伤及手术后等高代谢状态下的小儿[2—4]。复方氨基酸

收稿日期：2021-04-30
基金项目：河南省教育厅科技项目——细胞成像发光探针设计合成及应用研究(编号18B150009)
作者简介：李　明(1990—)，男，硕士，讲师，从事化学工程与技术研究。
通信作者：赵开楼(1979—)，男，博士，副教授，从事分析化学研究。
E-mail：free5660@163.com

注射液中盐酸半胱氨酸最不稳定，极易被氧化成不溶于水的胱氨酸等物质。因此，在复方氨基酸注射液中，盐酸半胱氨酸的含量是否符合规定直接反映产品质量和工艺水平。复方氨基酸注射液中的盐酸半胱氨酸常用柱前或柱后衍生氨基酸分析方法进行测定，如张莹等采用异硫氰酸苯酯（PITC）柱前衍生法测定复方氨基酸注射液（3AA）中氨基酸的含量[5]，发现当 PITC 乙腈溶液的质量浓度较低时，衍生物峰面积较小；质量浓度较高时又会产生其他衍生物。阚微娜等用 PITC 与氨基酸衍生化后，测定了复方氨基酸注射液（9AA）中盐酸半胱氨酸的含量，发现盐酸半胱氨酸峰极易受到相邻其他氨基酸峰的干扰，且不易重现[6]。采用氟苯柱衍生法测定盐酸半胱氨酸含量，存在反应时间长且反应温度高等缺点[7—8]。

由于复方氨基酸注射液中含有的氨基酸种类较多，采用液相色谱法很难将盐酸半胱氨酸完全分离，同时柱前柱后衍生法操作费时、分析成本高、灵敏度低，难以对复方氨基酸注射液中的盐酸半胱氨酸进行准确定量测定。现行国家药品标准中均使用甲酸和过氧化氢氧化法测定盐酸半胱氨酸[9—12]，该方法专属性差、干扰多。基于盐酸半胱氨酸检测方法现状，本研究首先合成了 γ-Al_2O_3/SiO_2 核壳结构吸附剂，利用等电点的差异对盐酸半胱氨酸进行预分离富集；其次合成了一种化学发光探针，可以实现高速、高选择性地检测盐酸半胱氨酸，即采用等电点法预分离富集结合化学发光探针，以期实现对复方氨基酸注射液中盐酸半胱氨酸的快速检测。

1 仪器与试药

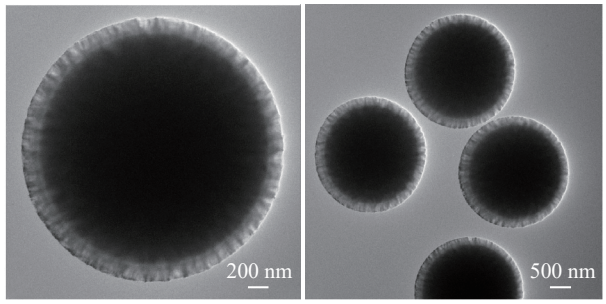
IFFM-E 型流动注射化学发光仪（西安瑞迈分析仪器有限公司）；雷磁 PHS-3C 型 pH 计（上海仪电科学仪器股份有限公司）；JEM-2100 型高分辨透射电镜（日本 JEOL 公司）。

鲁米诺（成都艾科达化学试剂有限公司，含量 98%，批号 R18375）；盐酸半胱氨酸（国药集团化学试剂有限公司，含量 98.5%，批号 20140530）；复方氨基酸注射液（18AA-Ⅲ，湖北某制药公司，批号 20190321、20190507、20190816）；其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 吸附剂的合成及表征

参考文献[13]，以硝酸铝和硅胶为原料，采用均匀沉淀法将 γ-Al_2O_3 包覆于 SiO_2 表面，得到 γ-Al_2O_3/SiO_2 核壳结构吸附剂，并利用透射电镜（TEM）对 γ-Al_2O_3/SiO_2 核壳结构吸附剂进行表征。结果见图 1，可见 γ-Al_2O_3 成功包覆到硅胶微球核的表面，其中硅胶微球核粒径约为 2 μm，γ-Al_2O_3 壳厚度约为 150 nm，单分散性良好。利用 BET 比表面积测试法测得微球的比表面积为 35 m^2/g，该核壳结构表面较粗糙。



A B

图 1 γ-Al_2O_3/SiO_2 核壳结构吸附剂的 TEM 照片
（A：×10 000，B：×4 000）

Fig.1 TEM Images of γ-Al_2O_3/SiO_2 Core-shell Structure Adsorbent (A: ×10 000, B: ×4 000)

利用等电点差异分离富集盐酸半胱氨酸。由于 pH 值是影响材料吸附性能的主要因素，本研究主要考察溶液 pH 值对材料吸附盐酸半胱氨酸的影响。结果见图 2，当溶液 pH<5.0 时，γ-Al_2O_3/SiO_2 核壳结构吸附剂对盐酸半胱氨酸几乎无吸附（尤其 pH<4.5 时完全不吸附）。盐酸半胱氨酸的等电点约为 5.05，γ-Al_2O_3 的等电点约为 7.00，当溶液 pH<4.5 时，盐酸半胱氨酸和 γ-Al_2O_3 均带正电荷，两者之间产生静电斥力，使盐酸半胱氨酸不能吸附至 γ-Al_2O_3 表面。当溶液 pH>5 时，盐酸半胱氨酸在 γ-Al_2O_3 表面的吸附量快速增加，当溶液 pH 值达到 6.0 时吸附量达到最大。但随着溶液 pH 值的进

一步增加，吸附量又呈现减小的趋势，主要是因为当溶液 pH>5.05 时，盐酸半胱氨酸所带的负电荷随着 pH 值的增大逐渐增加，而此时 γ-Al_2O_3 表面带正电荷，两者之间的静电引力逐渐增强，使吸附量快速增加。但当溶液 pH>6.0 时，虽然盐酸半胱氨酸所带的负电荷增加了，但 γ-Al_2O_3 表面正电荷减少，导致两者之间静电引力降低，吸附量因而降低。并且，当溶液 pH 值为 6.0 时还会使等电点 <6.0 的其他氨基酸（如甘氨酸、苯丙氨酸等）在 γ-Al_2O_3 表面产生吸附，从而影响盐酸半胱氨酸的分离效果。所以综合考虑，本研究选择溶液 pH 值为 5.3，此时只有等电点 <5.3 的氨基酸（半胱氨酸、谷氨酸和门冬氨酸）可以在 γ-Al_2O_3 表面产生吸附，从而实现 γ-Al_2O_3 对氨基酸的选择性吸附。

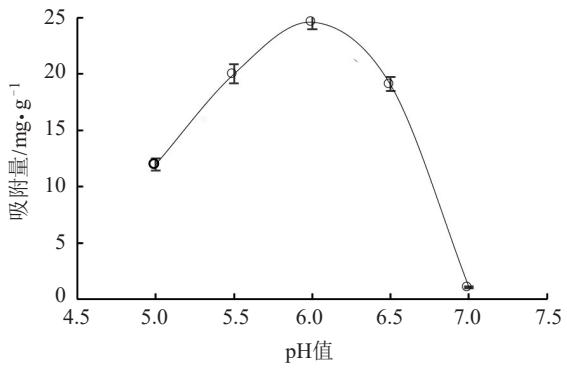


图 2　pH 值对 γ-Al_2O_3/SiO_2 纳米粒吸附盐酸半胱氨酸的影响（n=5）

Fig.2　Effect of pH Value on Adsorption of Cysteine Hydrochloride on γ-Al_2O_3/SiO_2 Nanoparticles (n=5)

将 pH 5.3 的 γ-Al_2O_3/SiO_2 核壳结构吸附剂离心（1 677×g）10 min 后过滤，然后悬浮于 pH 4.5 的纯水中，此时盐酸半胱氨酸和 γ-Al_2O_3 均带正电荷，两者间产生静电斥力，从而使盐酸半胱氨酸从 γ-Al_2O_3 表面解吸下来，此时等电点 <4.3 的氨基酸（谷氨酸和门冬氨酸）依然吸附于 γ-Al_2O_3 表面，从而达到富集并分离盐酸半胱氨酸的目的。

2.2　发光探针的合成与表征

在弱碱性条件下，过氧化氢可氧化鲁米诺产生较强的化学发光，当鲁米诺结构中的氨基与丙烯酰氯反应生成丙烯酰胺结构后，反应体系的化学发光被猝灭，当加入盐酸半胱氨酸后，其结构中的巯基可与丙烯酰胺结构中的双键发生加成反应，使体系的化学发光强度恢复，而其他氨基酸不能反应，因此，此合成探针对盐酸半胱氨酸具有良好的选择性。

发光探针合成反应原理见图 3，鲁米诺的分子结构中含有氨基，易与丙烯酰氯反应生成酰胺。基于此反应，精密量取 *N*,*N*- 二甲基甲酰胺（DMF）18 ml、鲁米诺 1 g、三乙胺 2 ml，置 50 ml 三颈反应瓶中，于 25 ℃通入氮气搅拌 2 h，吹出反应液中微量水，然后移入冰浴中，缓慢滴加丙烯酰氯 2 ml，继续搅拌 24 h。薄层色谱监测丙烯酰氯与鲁米诺反应试验完成后，减压旋蒸，蒸除未反应的丙烯酰氯，过滤去除反应过程中产生的盐，将滤液倾入冰水 200 ml 中，产生沉淀，过滤，冷冻干燥 3 d，干燥后进行薄层色谱分离，淋洗液为二氯甲烷：乙酸乙酯（5 ∶ 1），收集滤液组分，旋蒸干燥得产物。

核磁共振氢谱结果如下。^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d_6) δ: 5.832 ～ 5.861 (q, 1H), 6.240 ～ 6.319 (t, 2H), 7.586 ～ 7.608 (q, 1H), 7.818 ～ 7.839 (d, 1H), 8.885 ～ 8.908 (q, 1H), 11.867 (s, 2H), 13.159 (s, 1H)，产率 31%［mp 268 ～ 270 ℃］。

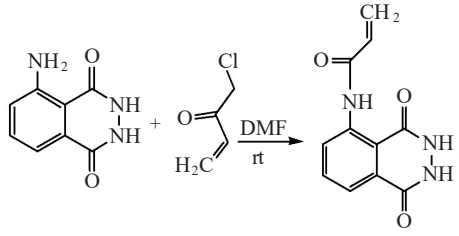


图 3　发光探针合成路线

Fig.3　Synthesis Route of Chemiluminescent Probe

2.3　溶液配制

盐酸半胱氨酸贮备液：取盐酸半胱氨酸 1 g，溶于 pH 10.0 的 $NaCO_3$-$NaHCO_3$ 缓冲溶液 1 L 中，得质量浓度为 1 g/L 的盐酸半胱氨酸贮备液。

发光探针溶液：取发光探针（5.0×10^{-4} mol）0.116 g 溶于 0.01 mol/L 的氢氧化钠溶液 250 ml 中，即得 2.0×10^{-3} mol/L 的发光探针溶液。

缓冲溶液：取 1.0 mol/L 的碳酸氢钠溶液 500 ml，插入 pH 电极，稀释至 1.0 L，滴加 10 mol/L 的氢氧化钠溶液调至 pH 9.0、9.5、10.0、10.5、11.0、11.5、12.0、12.5、13.0、13.5，即得所需 pH 值的缓冲溶液。

盐酸半胱氨酸标准溶液：取 7 个 100 ml 量瓶，分别加入 1 g/L 的盐酸半胱氨酸贮备液 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、2.0 ml，依次用纯水定容，即得质量浓度为 1、2、4、6、8、10、20 μg/ml 的盐酸半胱氨酸标准溶液。

2.4 样品预处理

精密称取复方氨基酸注射液 100 ml，用 1 mol/L 盐酸调至 pH 5.3，加入 γ-Al_2O_3/SiO_2 核壳结构吸附剂 4 g，充分搅拌后，离心（1 677×*g*）20 min，过滤，用 pH 5.3 的盐酸洗涤 3 次，再将 γ-Al_2O_3/SiO_2 核壳结构吸附剂悬浮于 pH 4.5 的稀盐酸 10 ml 中，搅拌 30 min 后离心（1 677×*g*）20 min，过滤，收集滤液，重复操作 3 次，待用。

2.5 测定方法

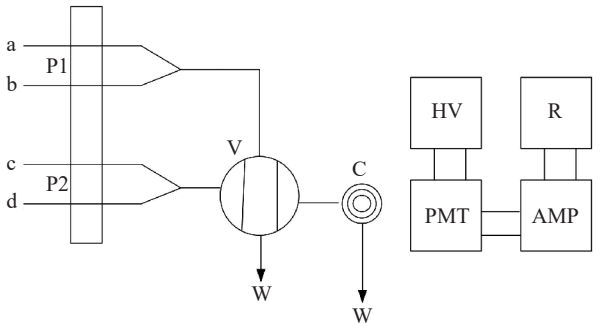
取经“**2.4**”项下方法预处理的洗脱液样品 2 ml，用 pH 12.5 的 $NaCO_3$-$NaHCO_3$ 缓冲溶液稀释至 50 ml，用 0.25 μm 滤膜抽滤，待用。

取盐酸半胱氨酸标准溶液或样品溶液 10 ml，加入“**2.3**”项下的发光探针溶液 12 ml，用 1 mol/L 盐酸调至 pH 6 ～ 7，30 min 后，按图 4 所示流路进行检测，将探针溶液和待测液（或盐酸半胱氨酸标准溶液）的混合反应液和 pH 12.5 缓冲溶液分别由 a、b 两管道从主泵 P1 泵入六通阀 V，然后启动副泵 P2，从 c、d 两管道分别再泵入 H_2O_2 溶液和 Cr^{3+} 溶液进入六通阀 V，将前步由主泵泵入六通阀的探针和待测物反应液带入发光反应池 C 产生化学发光反应，由光电倍增管检测发光强度。

2.6 化学发光检测法的优化

2.6.1 发光探针溶液 pH 值对发光强度的影响

发光探针具有弱酸性，过氧化氢则需要在弱碱性的条件下氧化鲁米诺（或其衍生物）而产生化学发光，因此反应体系的 pH 值对发光强度具有重要的影响。本试验测定了不同 pH 值反应体系对发光强度的影响，结果见图 5，发光强度随反应体系 pH 值的增加而增加，当体系 pH 值达到 12.5 时，发光强度增加趋势变缓，但是碱性越大对仪器的腐蚀性越强，而且当 pH 值达到 13.5 时，体系发光强度的稳定性变差，且 pH 值为 12.5 时的发光强度已能满足分析需要，因此，本试验反应体系 pH 值选择为 12.5。



a－探针溶液和待测液（或盐酸半胱氨酸标准溶液）的混合反应液；b－pH 12.5 缓冲溶液；c－H_2O_2 溶液；d－Cr^{3+} 溶液；P1－主泵；P2－副泵；V－六通阀；W－废液；C－发光反应池；PMT－光电倍增管；AMP－放大器；R－记录仪；HV－负高压

图 4 流动注射化学发光分析流路图

Fig.4 Schematic Diagram of Flow Injection Chemiluminescence Analysis

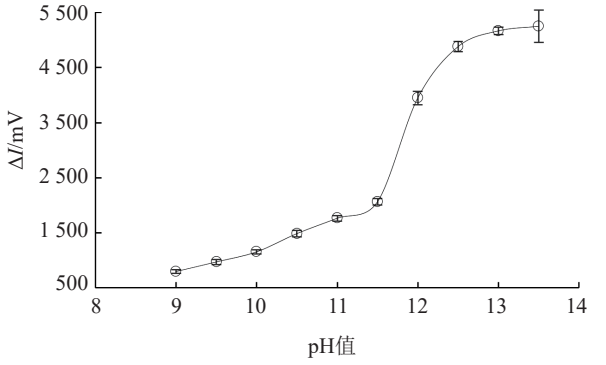


图 5 pH 值对发光强度的影响（*n*=5）

Fig.5 Influence of pH Value on Luminous Intensity（*n*=5）

2.6.2 探针浓度对发光强度的影响

本试验测定了发光探针浓度对发光强度的影响，结果见图 6。发光强度随着探针浓度的增加而增加，但是未加入盐酸半胱氨酸的反应体系发光强度（即空白值）也随之增加，当探针浓度增至 1.5×10^{-4} mol/L 时，发光强度增加的幅度减小，当探针浓度超过 2.0×10^{-4} mol/L 时，发光体系的稳定性随

之降低，另外考虑分析成本，当发光探针浓度为 1.5×10^{-4} mol/L 时所产生的发光强度已经足够大，综合考虑后发光探针浓度选择为 1.5×10^{-4} mol/L。

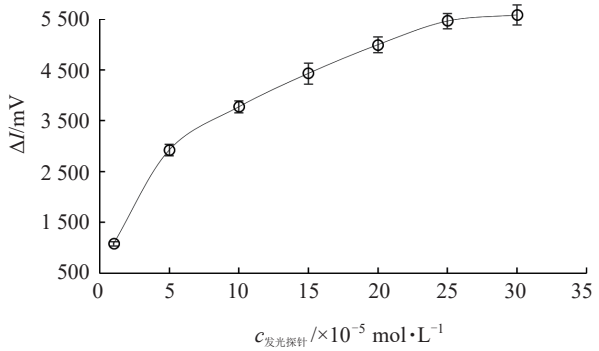


图 6　发光探针浓度对发光强度的影响（*n*=5）

Fig.6　Influence of Chemiluminescent Probe Concentration on Luminous Intensity (*n*=5)

2.6.3　H_2O_2 体积分数对发光强度的影响

H_2O_2 可氧化发光探针，与盐酸半胱氨酸的加成产物反应产生强光，因此，H_2O_2 体积分数能够影响体系发光强度。本试验考察了 H_2O_2 体积分数为 0.05%～1%对发光强度的影响，结果见图 7，发光强度随 H_2O_2 体积分数的增加而增加，当体积分数为 0.3%时发光强度达到最大值，因此本试验选择 H_2O_2 体积分数浓度为 0.3%。

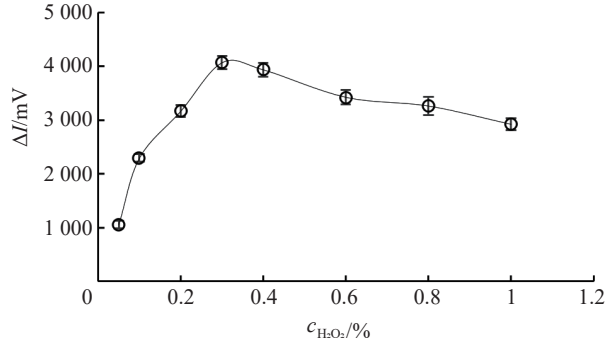


图 7　H_2O_2 体积分数对发光强度的影响（*n*=5）

Fig.7　Influence of Volume Fraction of H_2O_2 on Luminous Intensity (*n*=5)

2.6.4　Cr^{3+} 浓度对发光强度的影响

在碱性条件下，H_2O_2 可氧化发光探针，与盐酸半胱氨酸的加成产物产生化学发光，但此反应速率较慢，而某些金属离子可起催化作用，从而使发光强度快速增加。本试验选择 Cr^{3+} 作为催化剂，同时考察了 Cr^{3+} 浓度对发光强度的影响，结果见图 8，当 Cr^{3+} 浓度达到 2.5×10^{-4} mol/L 时发光强度达到最大，因此本试验 Cr^{3+} 浓度选择为 2.5×10^{-4} mol/L。

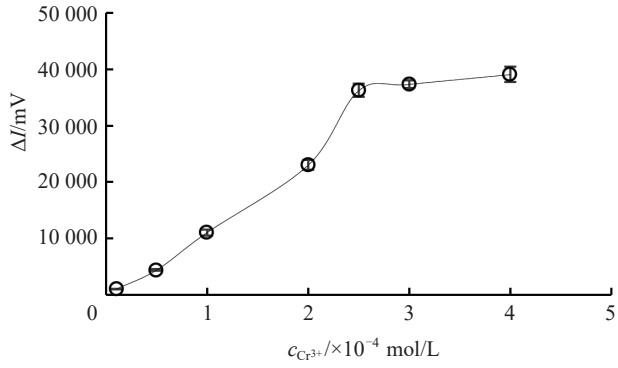


图 8　Cr^{3+} 浓度对发光强度的影响（*n*=5）

Fig.8　Influence of Cr^{3+} Concentration on Luminous Intensity (*n*=5)

2.6.5　干扰测定

为研究发光探针对盐酸半胱氨酸的响应是否具有良好的选择性，本试验考察了常见共存物质对测定的影响。选择盐酸半胱氨酸标准溶液质量浓度为 4 μg/ml，将干扰产生的信号低于检测信号的 5%视为无干扰。结果显示，1 000 倍的 K^+、Na^+、NH_4^+、Al^{3+}、Ca^{2+}、Zn^{2+}、SO_4^{2-}、PO_4^{3-}、CO_3^{2-}、NO_3^-、Cl^-、Ac^-、硫脲、尿素、尿酸、葡萄糖、麦芽糖、蔗糖、果糖、淀粉、L- 甘氨酸、L- 丙氨酸、L- 缬氨酸、L- 亮氨酸、L- 异亮氨酸、L- 苯丙氨酸、L- 酪氨酸、L- 色氨酸、L- 丝氨酸、L- 苏氨酸、L- 门冬氨酸、L- 谷氨酸、L- 门冬酰胺、L- 谷氨酰胺、L- 蛋氨酸、L- 组氨酸、L- 精氨酸、L- 脯氨酸、L- 胱氨酸、L- 赖氨酸均不对半胱氨酸测定产生干扰。Fe^{3+}、Fe^{2+}、Cu^{2+}、Cr^{3+}、Ni^{2+} 和 Co^{2+} 会对测定会产生干扰，因为这些离子可以催化发光反应，但向试液中加入 1 mol/L 的乙二胺四乙酸（EDTA）溶液 1 ml 即可消除这些离子的干扰，原因是 EDTA 可与上述离子迅速络合使之失去催化功能，但 Cr^{3+} 与 EDTA 的反

应速度很慢，基于此原理可以消除其他金属离子的干扰。

2.7 样品测定

取“**2.3**”项下质量浓度分别为1、2、4、6、8、10、20 μg/ml的盐酸半胱氨酸标准溶液，按“**2.5**”项下步骤进行测定，以质量浓度（c）为横坐标，发光强度（ΔI）为纵坐标，进行线性回归，得线性回归方程为ΔI=148.47c+4 354.6，R^2=0.993 3，说明盐酸半胱氨酸在1～20 μg/ml内线性关系良好。此外，对40 μg/L的盐酸半胱氨酸溶液连续测定8次，计算得ΔI的RSD（n=8）为2.75%，表明精密度良好。

按上述建立的方法测定市售复方氨基酸注射液中盐酸半胱氨酸的含量。将随机购买的3批复方氨基酸注射液按“**2.4**”和“**2.5**”项下方法进行处理测定；另取3批市售复方氨基酸注射液加入1 mg/ml的盐酸半胱氨酸标准溶液1 ml，同法处理，进行加标回收试验，并与《中华人民共和国药典》2020年版二部中的方法进行比对试验，测定结果见表1。

3 小结

本研究首先合成了γ-Al_2O_3/SiO_2核壳结构吸附剂，利用等电点的差异对盐酸半胱氨酸进行预分离富集；然后将鲁米诺与丙烯酰氯反应，再与盐酸半胱氨酸发生加成反应，所得产物可以被H_2O_2氧化产生很强的化学发光，据此，建立了可选择性识别检测盐酸半胱氨酸的新方法，将该法用于复方氨基酸注射液中盐酸半胱氨酸的检测，简便、快速、准确，检测结果良好。

此外，据文献报道[14]，尿液中同型半胱氨酸（Hcy）、视黄醇结合蛋白（RBP）可能成为临床评估肾功能早期损伤的新指标。因此，此方法还可应用于检测尿液中的盐酸半胱氨酸，具有较强的推广应用前景。

表1 样品中盐酸半胱氨酸的检测及加标回收率结果（n=3）

Tab.1 Determination and Recovery Results of Cysteine Hydrochloride in Samples（n=3）

批号	样品测定值/μg·ml^{-1}	药典方法测定值/μg·ml^{-1}	加入量/μg·ml^{-1}	检出量/μg·ml^{-1}	加标回收率/%	平均加标回收率/%	RSD/%
20190321	180	178.6	182	359	98.35		
20190507	180	179.1	183	361	98.91	98.36	0.5
20190816	180	179.5	184	362	97.83		

参考文献：

[1] 李 妮. 小儿复方氨基酸的临床饮用与护理[J]. 现代医药卫生, 2012, **28**(6): 919-920.

[2] 李 莉, 崔红艳, 钟家琪, 等. HPLC法同时直接测定复方氨基酸注射液(18AA)中的蛋氨酸亚砜和蛋氨酸砜[J]. 分析实验室, 2018, **37**(11): 1309-1314.

[3] UNGER N, HOLZGRABE U. Stability and assessment of amio acids in parenteral nutrition solutions [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2018, **147**: 125-139.

[4] 李 莉, 周 颖, 崔红艳, 等. 复方氨基酸注射液(18AA)中焦谷氨酸的限量检查方法研究[J]. 云南化工, 2018, **45**(6): 124-127.

[5] 张 莹, 黄 哲. 异硫氰酸苯酯柱前衍生法测定复方氨基酸注射液(3AA)中氨基酸含量[J]. 天津药学, 2013, **25**(4): 17-20.

[6] 阚微娜, 王沪凯. 高效液相色谱法测定复方氨基酸注射液(9AA)中抗氧化剂的含量[J]. 中国生化药物杂志, 2012, **33**(6): 833-836.

[7] 徐崇范, 高 磊, 赵春香. RP-HPLC测定依达拉奉注射液中*L*-半胱氨酸盐酸盐含量[J]. 中国药学杂志, 2010, **45**(18): 1420-1422.

[8] 陈 娟, 陈志永, 孟 雪, 等. 柱前衍生高效液相色谱法测定复方氨基酸注射液中盐酸半胱氨酸含量[J]. 中国药业, 2020, **29**(17): 74-76.

[9] 国家食品药品监督管理总局. 国家药品标准: YBH01482017 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.

[10] 国家食品药品监督管理总局. 国家药品标准: YBH03752006 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.

[11] 国家食品药品监督管理总局. 国家药品标准: YBH08412006 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.

[12] 国家食品药品监督管理总局. 国家药品标准: YBH01382016 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.

[13] 侯昭胤, 王军华, 聂仁峰, 等. 核壳结构Al_2O_3-SiO_2固体酸催化剂的制备方法: 中国, 101850244A [P]. 2010-10-06.

[14] 李元宽. 尿液同型盐酸半胱氨酸、视黄醇结合蛋白检测在肾功能早期损伤中的诊断价值[J]. 国家检验医学杂志, 2017, **38**(14): 1991-1993.