

基于超分子传感阵列的胶类中药特征研究及应用

郑建校¹, 牛可敬¹, 周立欣¹, 王跃飞^{1,2*}, 于卉娟^{1,2*}

1. 天津中医药大学中医药研究院, 现代中药创制全国重点实验室, 天津 301617

2. 现代中医药海河实验室, 天津 301617

摘要:目的 建立基于超分子传感技术的胶类中药特征表征方法。方法 采用指示剂置换分析(indicator displacement assay, IDA)策略,以胶类中药供试品溶液为分析物,筛选可与其产生特异性荧光信号的大环分子-染料主客体对作为传感单元,构建传感阵列;通过检测不同胶类中药与不同传感对作用后的荧光强度,结合模式识别方法进行分析与区分。结果 基于由环糊精、葫芦脲、杯芳烃及联苯芳烃等超分子大环主体与染料构建的主客体传感单元库,筛选出对胶类中药具有灵敏响应的传感单元,成功构建了由季铵盐杯[5]芳烃(QAC5A)·曙红Y二钠盐(EY)(0.4 μmol/L vs 0.5 μmol/L)、季铵盐偶氮杯[4]芳烃(QAAC4A)·EY(1 μmol/L vs 1 μmol/L)、十二烷基季铵偶氮杯[4]芳烃(QAAC4A12C)·EY(0.6 μmol/L vs 1 μmol/L)、联苯[3]芳烃(WTP3)·荧光素钠(FI)(0.3 μmol/L vs 0.6 μmol/L)组成的四元超分子传感阵列。主成分分析(principal component analysis, PCA)结果表明,阿胶、新阿胶、鳖甲胶、鹿骨胶、龟甲胶(或鹿角胶)在95%置信区间内能够被明显区分。结论 构建四元超分子传感阵列结合模式识别分析,可用于对不同胶类中药的快速区分。

关键词: 胶类中药; 超分子传感; 指示剂置换分析; 传感阵列; 区分; 主成分分析; 阿胶; 新阿胶; 鳖甲胶; 鹿骨胶; 龟甲胶; 鹿角胶

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)13-5043-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.13.009

Characteristic analysis and application of gelatinous Chinese medicines based on supramolecular sensing array

ZHENG Jianxiao¹, NIU Kejing¹, ZHOU Lixin¹, WANG Yuefei^{1,2}, YU Huijuan^{1,2}

1. National Key Laboratory of Chinese Medicine Modernization, Institute of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

2. Haihe Laboratory of Modern Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

Abstract: Objective To establish a method for differentiating gelatinous Chinese medicines (GCMs) based on supramolecular sensing technology. **Methods** An indicator displacement assay (IDA) strategy was employed where test sample solutions of GCMs served as analytes and macrocyclic molecule-dye host-guest pairs with specific fluorescence signals were used as sensing pairs to construct a sensor array. The fluorescence intensity changes resulting from the interaction between different GCMs and the sensing units were detected and combined with pattern recognition methods for differentiation. **Results** Through screening host-guest sensing units with selective fluorescence responses to GCMs from a supramolecular library consisting of cyclodextrins, cucurbiturils, calixarenes, and biphen[*n*]arenes hosts combined with dyes, a quaternary supramolecular sensor array was constructed including quaternary ammonium salt calix[5]arene (QAC5A)·eosin Y (EY) (0.4 μmol/L vs 0.5 μmol/L), quaternary ammonium modified azocalix[4]arene (QAAC4A)·EY (1 μmol/L vs 1 μmol/L), dodecyl quaternary ammonium salt azocalix[4]arene (QAAC4A12C)·EY (0.6 μmol/L vs 1 μmol/L), and terphen[3]arene (WTP3)·fluorescein (FI) (0.3 μmol/L vs 0.6 μmol/L). Principal component analysis (PCA) demonstrated that Ejiao (*Colla Corii Asini*), Xin'ejiao (*Colla Corii Suilli*), Biejiajiao (*Colla Carapacis Trionychis*), Luguujiao

收稿日期: 2026-01-05

基金项目: 国家中医药管理局科技项目(GZY-KJS-2025-062); 天津市科技计划项目(25ZYCGCG00390); 天津市科技计划项目(25HHZYSS00005)

作者简介: 郑建校(2002—),男,硕士研究生,主要从事中药药效物质及质量控制研究。Tel: (022)59596366 E-mail: z13012621716@163.com

*通信作者: 于卉娟(1988—),女,副研究员,主要从事中药超分子化学研究。Tel: (022)59596366 E-mail: huijuanyu@tjutc.edu.cn

王跃飞(1980—),男,教授,主要从事中药药效物质基础研究。Tel: (022)59596366 E-mail: wangyf0622@tjutc.edu.cn

(*Colla Ossis Cervi*), Guijijiao (*Colla Carapacis et Plastris Testudinis*) or Lujijiao (*Colla Cornus Cervi*) could be significantly distinguished within a 95% confidence interval. **Conclusion** This study developed a quaternary supramolecular sensor array integrated with pattern recognition analysis which enables rapid discrimination of various GCMS.

Key words: gelatinous traditional Chinese medicine; supramolecular sensing; indicator displacement assay; sensor array; differentiation; principal component analysis; *Colla Corii Asini*; *Colla Corii Suilli*; *Colla Carapacis Trionychis*; *Colla Ossis Cervi*; *Colla Carapacis et Plastris Testudinis*; *Colla Cornus Cervi*

胶类中药在我国应用历史悠久,例如阿胶,其使用最早可追溯至两千多年前,并记载于我国现存最古老的医学方书《五十二病方》中^[1]。胶类中药为动物胶,传统上以动物的皮、骨、甲或角等为原料,经水煎煮、浓缩收胶、干燥后切块等工艺加工制成的固体胶块^[2-3]。胶类中药中有大量的动物蛋白、肽、氨基酸和丰富的微量元素等^[4]。胶类中药具有补血、滋阴、润燥、止血等功效,临床应用与养生保健用途广泛。根据所用动物原料的来源不同,胶类中药主要分为以下几类:皮胶类,如阿胶(驴皮胶)、黄明胶(牛皮胶)与新阿胶(猪皮胶);角胶类,如鹿角胶;骨胶类,如虎骨胶、鹿骨胶;甲胶类,如龟甲胶、鳖甲胶。胶类中药,如阿胶,在传统医学中被誉为“补血圣药”与“妇科圣药”,因其显著的临床疗效与滋补价值,市场需求持续增长^[5]。阿胶主要原料驴皮并非主要家畜产品,其资源有限,需求的激增进一步加剧了原料短缺^[6-7]。市场上采用马皮、牛皮、猪皮甚至工业皮革等杂皮熬制、掺伪的假冒伪劣产品屡见不鲜,严重影响了阿胶的市场声誉与临床用药安全^[8]。因此,建立高效、便捷的评价区分方法,已成为保障胶类中药高质量发展的迫切需求。

胶类中药的区分主要依赖于光谱法、色谱法及其与质谱的联用技术^[9]。在光谱分析方面,可见-近红外光谱(visible-near infrared spectroscopy, Vis-NIRS)可用于区分阿胶和黄明胶^[10];傅里叶变换红

外光谱(Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)结合二维相关分析(two-dimensional infrared correlation spectroscopy, 2D-IR)能够从分子层面揭示阿胶与黄明胶的微观差异^[11];NIRS技术亦可用于阿胶、黄明胶、鹿角胶及龟甲胶的鉴别^[12]。

在色谱分析中,HPLC指纹图谱法被应用于阿胶与龟甲胶的区分^[13]。质谱联用技术因具备高专属性,在胶类鉴别中展现出独特优势。基于特征肽检测,超高效液相-四极杆飞行时间质谱(UPLC/Q-TOF-MS)、高效液相色谱-三重四极杆质谱(LC-QQQ-MS)可用于多种胶类的区分^[14-16]。尽管上述技术为胶类中药的鉴别提供了有效手段,但在实际应用中仍面临显著局限。光谱法虽操作简便,但易受样品基质干扰、特征信号重叠严重,导致特异性欠佳;质谱法虽灵敏度高,但依赖昂贵设备、样品前处理繁琐、操作复杂等问题。此外,蛋白质组学分析^[17]、凝胶电泳^[18]及DNA分子鉴定^[19]等方法也在胶类中药鉴别中逐步得到应用,其通用性与实用性方面仍面临诸多挑战。因此,亟需开发更高效、便捷的胶类中药区分技术,以推动胶类中药质量控制的整体进步。

近年来,受哺乳动物味觉和嗅觉系统启发的阵列传感技术,在疾病诊断、环境监测及食品安全等领域备受关注意^[20]。该技术利用分析物与传感单元阵列间的交叉反应性,产生多维响应信号,通过模式识别实现对复杂体系区分(图1)。超分子大环化合

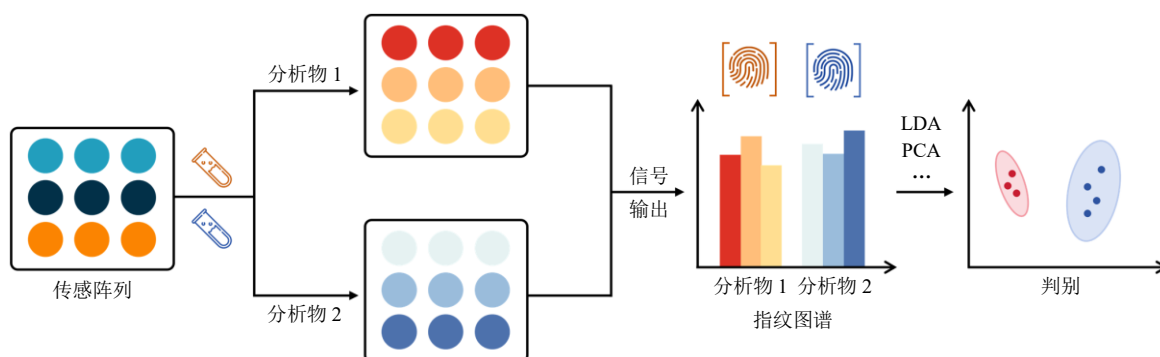


图1 传感阵列示意图

Fig. 1 Schematic diagram of sensor array

物(如环糊精、葫芦脲、杯芳烃、联苯芳烃)易于合成和衍生化,具有广谱封装能力,是构建具有增强交叉反应性的传感阵列富有前景的材料^[21]。指示剂置换分析(indicator displacement assay, IDA)是一种基于超分子主客体相互作用的检测策略,其核心是通过竞争性置换,实现目标分析物的灵敏识别与荧光信号输出(荧光增强、荧光淬灭等),该策略无需化学标记,具有高选择性、快速响应等优势^[22]。目前,该策略已被成功应用于白茶鉴别^[23]、茶叶分类^[24]及蜂蜜溯源^[25]等研究中。课题组前期基于IDA策略,构建了超分子传感阵列,成功应用于祛风止痛胶囊、双黄连注射液及银杏密环口服溶液的质量评价^[26-27]。

基于交叉响应的超分子传感阵列技术能够对结构相似的分析物产生差异化响应模式,在复杂体系的高效区分方面展现出独特优势。本研究针对胶类中药区分方法耗时、成本高、步骤复杂等问题,拟构建针对胶类中药的超分子传感阵列,提出其可通过多通道识别实现对不同胶类物种来源及加工制品的精准区分的科学假设。采用IDA策略,以胶类中药为分析物,筛选可与其产生特异性荧光信号的大环分子·染料主客体对作为传感单元,构建传感阵列,用于胶类中药区分,以期为其快速鉴别提供新方法。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Centrifuge 5424R 型台式离心机,德国艾本德股份有限公司;Votex-5 型涡旋振荡器,海门市其林贝尔仪器制造有限公司;Varian Cary Eclipse 型荧光分光光度计及石英比色皿,美国安捷伦(Agilent)公司;MS 105-DU 型十万分之一电子天平、ME204 型万分之一天平、FE20 型 pH 测量仪,瑞士梅特勒-托利多集团;UPR-11-15TNZP 型超纯水机,四川优普超纯科技有限公司;DL-720B 型智能超声波清洗器,上海之信仪器有限公司;HYC-940 型 4 °C 医用冷藏冰箱,青岛海尔特种电器有限公司。

1.2 药品与试剂

曙红 Y 二钠盐(eosin Y disodium salt, EY, 批号 MKCG1738)、甲基- β -环糊精(Me- β -clodextrins, Me- β -CD, 批号 Q11O10H99426)、 β -环糊精(β -clodextrins, β -CD, 批号 Z31J11Y119887)、葫芦脲[7](cucurbit[7]uril, CB[7], 批号 MKCF0481)、葫芦脲[8](cucurbit[8]uril, CB[8], 批号 MKCB7158)

均购自美国 Sigma-Aldrich 公司;亚甲基蓝(methylene blue, MB),批号 K50873270003,购自德国默克有限公司;对照品盐酸小檗碱(berberine hydrochloride, BC),批号 Q11O10H99426,购自上海源叶生物科技有限公司;荧光素钠(fluorescein, FI),批号 SHBL7023,购自武汉艾美捷科技有限公司;氢氧化钠(NaOH),分析级,购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;中性红(neutral red, NR, 批号 MKCG8905)和 4-(2-羟乙基)-1-哌嗪乙磺酸[4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid, HEPES, 批号 SLCD7756]购自天津希恩思生化科技有限公司;季铵盐杯[5]芳烃(quaternary ammonium salt calix[5]arene, QAC5A)、季铵盐偶氮杯[4]芳烃(quaternary ammonium modified azocalix[4]arene, QAAC4A)、十二烷基季铵盐偶氮杯[4]芳烃(dodecyl quaternary ammonium salt azocalix[4]arene, QAAC4A12C)由南开大学化学学院郭东升教授惠赠;联苯[3]芳烃(terphen[3]arene, WPT3)由天津师范大学李春举教授惠赠。

1.3 药材

阿胶 *Colla Corii Asini* (批号 2405010)、黄明胶 *Colla Corii Bovis* (批号 2409001)、鹿角胶 *Colla Cornus Cervi* (批号 2310003)、龟甲胶 *Colla Carapacis et Plastris Testudinis* (批号 2312002) 购自东阿阿胶股份有限公司,鳖甲胶 *Colla Carapacis Trionychis* (批号 240120) 购自河南老君堂制药有限公司,鹿骨胶 *Colla Ossis Cervi* (批号 24112701) 购自安徽亳州中药材市场,新阿胶 *Colla Corii Suilli* (批号 24061601) 购自河北安国中药材市场,分别经天津中医药大学李先宽副教授鉴定,阿胶为马科马属动物驴 *Equus asinus* L. 的皮经煎煮浓缩制成的固体胶块,黄明胶为洞角科(牛科)牛属动物牛 *Bos taurus domesticus* Gmelin 的皮经煎煮浓缩制成的固体胶块,鹿角胶为鹿科鹿属动物梅花鹿 *Cervus nippon* Temminck 的角经水煎煮浓缩制成的固体胶块,龟甲胶为龟科拟水龟属动物乌龟 *Chinemys reevesii* (Gray) 的背甲及腹甲经水煎煮浓缩制成的固体胶块,鳖甲胶为鳖科鳖属动物鳖 *Trionyx sinensis* Wiegmann 的背甲经水煎煮浓缩制成的固体胶块,鹿骨胶为鹿科鹿属动物梅花鹿 *C. nippon* Temminck 的骨骼经水煎煮浓缩制成的固体胶块,新阿胶为猪科野猪属动物猪 *Sus scrofa domestica* Brisson 的皮经煎煮浓缩制成的固体胶块。

2 方法与结果

2.1 检测体系溶液和供试品溶液的制备

2.1.1 HEPES (10 mmol/L, pH 7.4) 缓冲溶液的配制 称取 HEPES 2.38 g, 加入 0.9 L 超纯水溶解, 在 25 °C 下, 用氢氧化钠溶液 (0.1 mol/L) 将溶液 pH 值调至 7.4, 加超纯水补至 1 L, 得到 10 mmol/L 的 HEPES 缓冲溶液。

2.1.2 传感对溶液的配制 精密称定大环主体 (β -CD、Me- β -CD、CB[7]、CB[8]、QAC5A、QAAC4A、QAAC4A12C、WTP3)、染料客体 (MB、NR、BC、EY、Fl) 样品粉末, 用 HEPES 缓冲溶液 (10 mmol/L, pH 7.4) 配制传感对溶液^[28-31]。检测体系中传感对浓度分别为 β -CD·MB (1 mmol/L vs 10 μ mol/L)、Me- β -CD·NR (0.4 mmol/L vs 10 μ mol/L)、CB[7]·BC (12 μ mol/L vs 10 μ mol/L)、CB[8]·BC (3 μ mol/L vs 10 μ mol/L)、QAC5A·EY (0.4 μ mol/L vs 0.5 μ mol/L)、QAAC4A·EY (1 μ mol/L vs 1 μ mol/L)、QAAC4A12C·EY (0.6 μ mol/L vs 1 μ mol/L)、WTP3·Fl (0.3 μ mol/L vs 0.6 μ mol/L)。

2.1.3 供试品溶液的配制 取 0.25 g 胶类中药样品粉末 (过 2 号筛), 置于 10 mL 离心管中, 加入 5 mL 纯水, 40 °C 超声 30 min^[32-33]; 放至室温, 14 000 r/min 离心 (离心半径 24 mm) 15 min, 取上清液过 0.45 μ m 滤膜, 即得胶类中药供试品溶液。

2.2 荧光分光光度计检测条件

采用配备 Cary Single-cuvette Peltier 比色皿控温装置的 Varian Cary Eclipse 荧光光谱仪进行检测, 样品池为石英比色皿, 光程为 10 mm; 荧光滴定试验均在 25 °C 下进行。取传感对溶液 2 mL 置于荧光比色皿中, 进行荧光检测, 参数设置见表 1。多次扫描荧光发射光谱, 直至连续 3 次记录的荧光发射光谱重合, 记录传感对溶液达到平衡时的荧光发射光

表 1 荧光光谱仪测定参数

Table 1 Fluorescence spectrometer measurement parameters

传感对	激发波长/nm	最大发射波长/nm	扫描范围/nm	激发狭缝/nm	发射狭缝/nm
β -CD·MB	664	688	660~850	5.0	5.0
Me- β -CD·NR	460	573	470~800	5.0	5.0
CB[7]·BC	445	500	460~700	5.0	10.0
CB[8]·BC	445	526	460~700	5.0	10.0
QAC5A·EY	517	537	520~680	2.5	5.0
QAAC4A·EY	517	537	520~680	2.5	5.0
QAAC4A12C·EY	517	537	520~680	2.5	5.0
WTP3·Fl	500	513	505~650	2.5	5.0

谱, 其中最大发射波长处的荧光强度记为 I_0 , 加入供试品溶液后记录其达到平衡时的荧光发射光谱, 最大发射波长处的荧光强度记为 I 。

2.3 数据处理

将测试样品荧光响应值的数据矩阵, 导入 Past 3 软件中, 使用线性判别分析 (linear discriminant analysis, LDA) 模块进行处理。

2.4 传感单元的筛选

基于由环糊精、葫芦脲、杯芳烃及联苯芳烃等超分子大环主体与染料构建的主客体传感单元库, 筛选出对胶类中药具有灵敏响应的传感单元。基于 IDA 策略 (图 2), 在适宜浓度传感对溶液中加入胶类中药供试品溶液 (分析物), 以加入分析物前后体系荧光强度的变化 ($|ΔI|$) 为考察指标, 筛选出对胶类中药具有灵敏响应的传感单元。

为评估供试品溶液对染料客体的潜在影响, 以阿胶供试品溶液为例进行考察。如图 3-A 所示, 在 MB 的激发波长 ($\lambda_{ex}=664$ nm) 下, 向 MB 溶液中加入 5 μ L 阿胶供试品溶液, 待检测体系稳定后未观察到染料 MB 荧光信号的显著变化, 表明供试品溶液对 MB 无明显干扰。采用相同方法考察了阿胶供试品溶液对 EY ($\lambda_{ex}=517$ nm)、Fl ($\lambda_{ex}=500$ nm) 荧光信号的影响。结果显示, 供试品溶液的加入均未明显影响上述染料荧光信号, 说明其在所选光谱范围内供试品溶液对染料体系无干扰。

为评估不同传感对体系对供试品溶液的荧光响应能力, 进一步考察了阿胶供试品溶液在传感对体系中的竞争置换行为。在 β -CD·MB (终浓度, 1 mmol/L vs 10 μ mol/L) 传感体系中加入 5 μ L 阿胶供试品溶液, 体系稳定后荧光强度变化微弱 ($|ΔI|=I-I_0=1$), 表明, 阿胶供试品溶液难以将 MB 从 β -CD 空腔中竞争置换, 反映出其与 β -CD 的结合亲和力较弱, 该体系不适用于阿胶的荧光传感分析。进一步采用相同方法考察了 Me- β -CD·NR (0.4 mmol/L vs 10 μ mol/L, 图 3-B)、CB[7]·BC (12 μ mol/L vs 10 μ mol/L, 图 3-C)、CB[8]·BC (3 μ mol/L vs 10 μ mol/L, 图 3-D)、QAC5A·EY (0.4 μ mol/L vs 0.5 μ mol/L, 图 3-E)、QAAC4A·EY (1 μ mol/L vs 1 μ mol/L, 图 3-F)、QAAC4A12C·EY (0.6 μ mol/L vs 1 μ mol/L, 图 3-G)、WTP3·Fl (0.3 μ mol/L vs 0.6 μ mol/L, 图 3-H) 传感体系对阿胶供试品溶液的荧光响应。阿胶供试品溶液的加入引起了 QAC5A·EY、QAAC4A·EY、QAAC4A12C·EY、WTP3·Fl 传感对体系中荧光强度

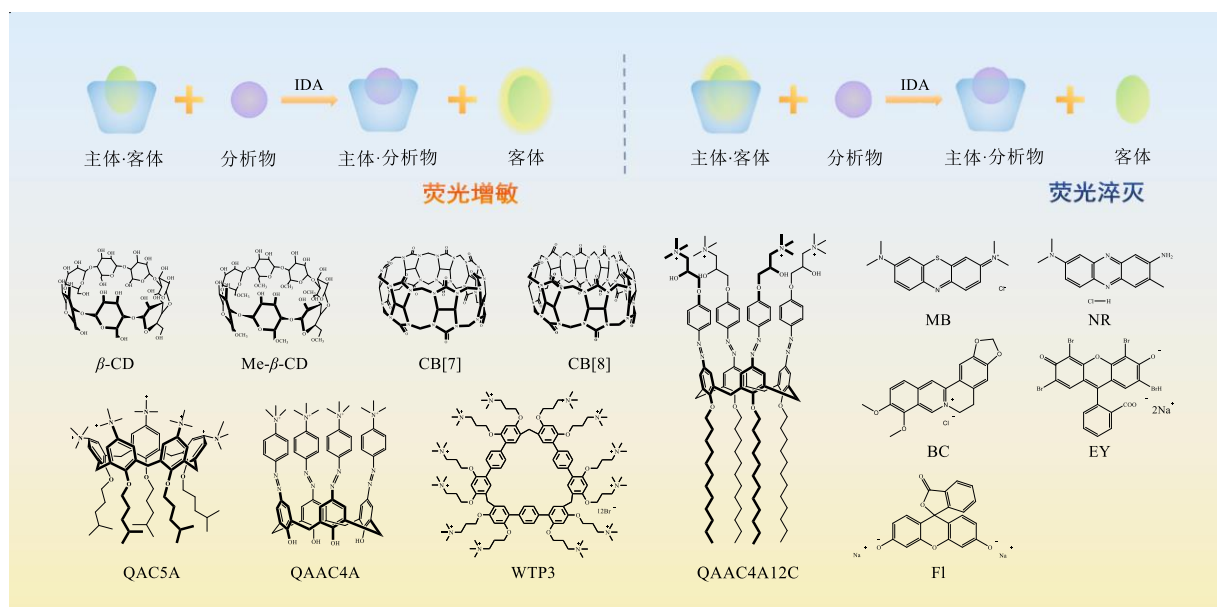


图2 基于超分子大环主体的 IDA 示意图

Fig. 2 Schematic of IDA based on supramolecular macrocycle host

的显著增强，其荧光强度变化值分别为 131、264、211、481；阿胶供试品溶液能够有效竞争置换出上述大环主体空腔的染料分子（EY、FI），导致染料在溶液中游离，体系荧光强度增加。在 Me-β-CD·NR、CB[7]·BC 和 CB[8]·MB 中分别加入阿胶供试品溶液后，荧光强度变化值（|ΔI|）分别为 1、7 和 5，均未呈现显著信号响应，推测原因为上述大环未有适宜的空腔结构、尺寸及电荷分布等使其与阿胶成分之间的非共价相互作用不佳。上述传感对体系未对阿胶样品溶液表现出良好的识别适配性，故它们不宜作为其荧光传感分析的识别元件。

QAC5A、QAAC4A、QAAC4A12C、WTP3 大环主体具有的空腔尺寸、深穴结构及电荷分布，更有利于其与阿胶中成分发生较强的分子间非共价相互作用（如氢键、疏水作用、静电吸引等），从而表现出较高的结合亲和力。本研究结果为基于主客体识别的高选择性荧光传感策略，用于阿胶供试品的快速鉴别提供了重要依据。

2.5 构建的传感阵列在其他胶类中药中应用验证

基于“2.4”项下筛选得到的对阿胶样品具有识别能力的传感对 QAC5A·EY（0.4 μmol/L vs 0.5 μmol/L）、QAAC4A·EY（1 μmol/L vs 1 μmol/L）、QAAC4A12C·EY（0.6 μmol/L vs 1 μmol/L）、WTP3·FI（0.3 μmol/L vs 0.6 μmol/L），进一步评估其对其他胶类中药的荧光响应行为。结果如图 4-A、B 所示，不同胶类中药供试品溶液对染料荧光强度无影响。

进一步，分别在上述传感体系中加入阿胶、黄明胶、鹿角胶、龟甲胶、鳖甲胶、鹿骨胶和新阿胶供试品溶液，待体系稳定后检测其荧光发射光谱。结果显示，不同胶类中药供试品溶液所引起的荧光信号增强程度存在明显差异，表明各传感单元具备区分多种胶类中药的潜力。基于上述差异响应特性，本研究选取该 4 组传感对作为传感单元，构建用于胶类中药识别的荧光传感阵列。

2.6 方法学考察

2.6.1 日内精密性试验 按照“2.1.3”项下方法制备阿胶供试品溶液，取 5 μL 加入传感对溶液中，按照“2.2”项下方法进行测定，重复测定 6 次，计算 4 个传感单元对供试品溶液的荧光响应值（ $F = I/I_0$ ），计算 6 次 F 值的平均值和 RSD 值。结果 4 个传感单元 QAC5A·EY、QAAC4A·EY、QAAC4A12C·EY、WTP3·FI 6 次测量数据的平均值分别为 3.064、3.344、2.796、6.211，RSD 分别为 1.87%、1.86%、2.35%、1.65%，4 个传感单元 6 次测量数据的 RSD 均 ≤ 2.35%，表明该方法日内精密性良好。

2.6.2 日间精密性试验 按照“2.1.3”项下方法制备阿胶供试品溶液，取 5 μL 加入传感对溶液中，按照“2.2”项下方法进行测定，每天重复测定 6 次，连续测定 3 d，计算 4 个传感单元对供试品溶液的 F 值，计算 3 d 测试数据的平均值和 RSD 值。结果 4 个传感单元 QAC5A·EY、QAAC4A·EY、QAAC4A12C·EY、WTP3·FI 3 d 测量数据的平均值分别为 3.083、

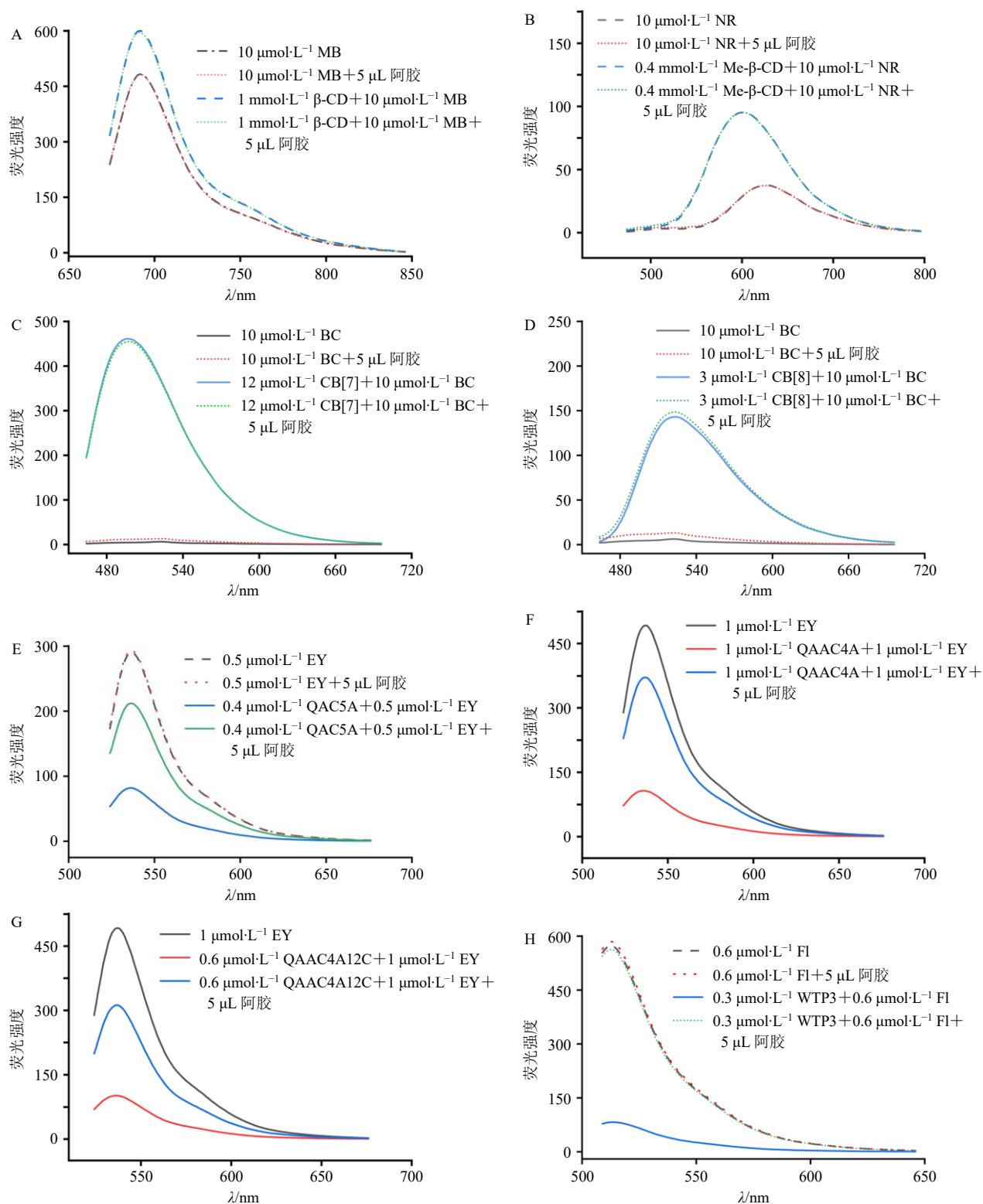


图3 β-CD·MB (A)、Me-β-CD·NR (B)、CB[7]·BC (C)、CB[8]·BC (D)、QAC5A·EY (E)、QAAC4A·EY (F)、QAAC4A12C·EY (G)、WTP3·FI (H) 传感对对阿胶供试品溶液的荧光响应

Fig. 3 Fluorescence responses of β-CD·MB (A), Me-β-CD·NR (B), CB[7]·BC (C), CB[8]·BC (D), QAC5A·EY (E), QAAC4A·EY (F), QAAC4A12C·EY (G) and WTP3·FI (H) sensing pairs to *Colla Corii Asini* sample solutions

3.320、2.784、6.102, RSD 分别为 1.50%、1.57%、0.61%、2.43%, 4 个传感单元 3 d 测量数据的 RSD

均 ≤ 2.43%, 表明该方法日间精密度良好。

2.6.3 重复性试验 按照“2.1.3”项下方法制备阿

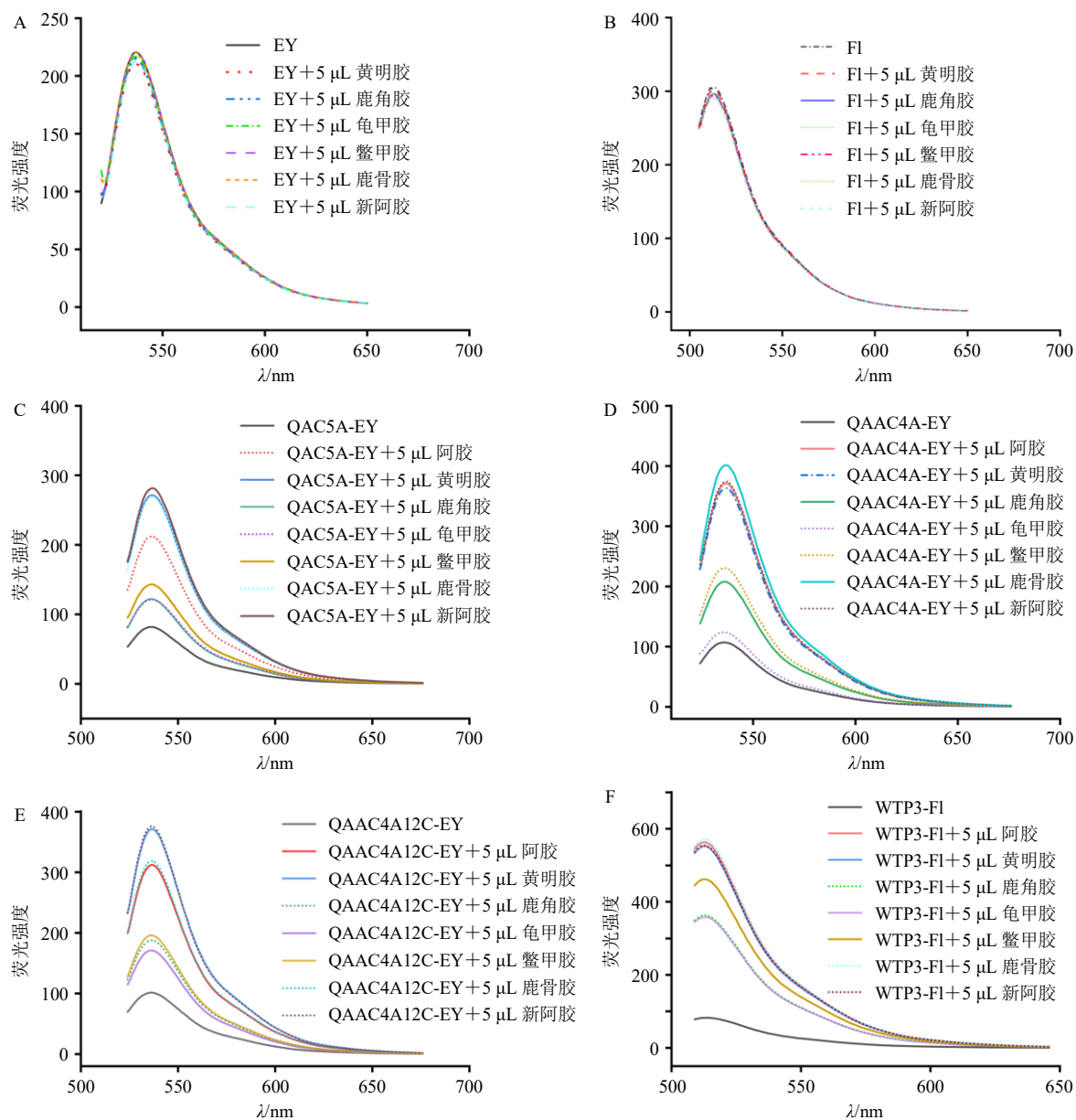


图4 染料 EY ($1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, A)、FI ($0.6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, B) 及主客体传感对 QAC5A·EY ($0.4 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ vs $0.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, C)、QAAC4A·EY ($1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ vs $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, D)、QAAC4A12C·EY ($0.6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ vs $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, E)、WTP3·FI ($0.3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ vs $0.6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, F) 对胶类中药供试品溶液的荧光响应

Fig. 4 Fluorescence responses of GCMs test solutions to dyes EY ($1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, A), FI ($0.6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, B), and host-guest sensing pairs QAC5A·EY ($0.4 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ vs $0.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, C), QAAC4A·EY ($1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ vs $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, D), QAAC4A12C·EY ($0.6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ vs $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, E), WTP3·FI ($0.3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ vs $0.6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, F)

胶供试品溶液，平行制备 6 份，取 $5 \mu\text{L}$ 加入传感对溶液中，按照“2.2”项下方法进行测定，计算传感单元对供试品溶液的 F 值，计算 6 份 F 值的平均值和 RSD 值。结果 4 个传感单元 QAC5A·EY、QAAC4A·EY、QAAC4A12C·EY、WTP3·FI 6 份测量数据的平均值分别为 3.128、3.342、2.910、6.171，RSD 分别为 3.90%、3.32%、2.78%、1.70%，4 个传感单元 6 份样品测量数据的 RSD 均 $\leq 3.90\%$ ，表明该方法重

复性良好。

2.7 基于传感阵列和模式识别的不同胶类中药区分研究

采用由 QAC5A·EY ($0.4 \mu\text{mol}/\text{L}$ vs $0.5 \mu\text{mol}/\text{L}$)、QAAC4A·EY ($1 \mu\text{mol}/\text{L}$ vs $1 \mu\text{mol}/\text{L}$)、QAAC4A12C·EY ($0.6 \mu\text{mol}/\text{L}$ vs $1 \mu\text{mol}/\text{L}$)、WTP3·FI ($0.3 \mu\text{mol}/\text{L}$ vs $0.6 \mu\text{mol}/\text{L}$) 传感对构建的传感阵列体系，对阿胶、黄明胶、鹿角胶、龟甲胶、鳖甲胶、鹿骨胶和

新阿胶样品溶液进行检测。每种胶类样品平行制备 3 份，每份重复测定 2 次，统计荧光强度比值 $F=I/I_0$ ，获得 1 个 $4 \times 7 \times 6$ 的原始数据矩阵并进行显著性检验（表 2、3）。

表 2 荧光响应矩阵

Table 2 Matrix of fluorescence response

样品	荧光强度比值F值				样品	荧光强度比值F值			
	QAC5A·EY	QAAC4A·EY	QAAC4A12C·EY	WTP3·FI		QAC5A·EY	QAAC4A·EY	QAAC4A12C·EY	WTP3·FI
阿胶	2.55	3.26	2.55	6.01	鳖甲胶	1.78	2.28	1.64	5.13
	2.51	3.29	2.54	5.98		1.75	2.28	1.65	5.19
	2.57	3.31	2.44	6.05		1.74	2.27	1.66	5.09
	2.53	3.30	2.44	6.06		1.75	2.18	1.64	4.97
	2.47	3.18	2.47	5.96		1.73	2.22	1.60	5.04
	2.47	3.17	2.45	6.10		1.73	2.25	1.57	4.94
黄明胶	2.62	2.94	2.67	5.83	鹿骨胶	2.74	3.60	2.57	6.18
	2.61	2.94	2.68	5.81		2.74	3.60	2.56	6.01
	2.57	2.98	2.66	5.97		2.84	3.59	2.51	6.12
	2.59	2.93	2.68	5.97		2.86	3.54	2.46	5.96
	2.68	2.96	2.57	5.88		2.85	3.50	2.58	6.06
	2.67	3.00	2.57	5.84		2.87	3.52	2.56	5.96
鹿角胶	1.47	1.78	1.50	3.93	新阿胶	2.29	3.10	2.74	5.67
	1.48	1.79	1.51	3.95		2.28	3.12	2.74	5.86
	1.47	1.82	1.47	4.06		2.42	3.16	2.84	6.08
	1.52	1.84	1.49	3.96		2.39	3.12	2.87	6.07
	1.48	1.81	1.47	3.96		2.43	2.95	2.81	5.99
	1.51	1.84	1.48	3.94		2.37	3.03	2.84	5.97
龟甲胶	1.57	1.87	1.43	3.93	标准差	0.509 8	0.652 1	0.551 0	0.898 1
	1.58	1.90	1.43	3.94					
	1.54	1.86	1.47	3.73					
	1.55	1.85	1.48	4.02					
	1.52	1.80	1.48	3.96					
	1.54	1.82	1.50	3.88					

表 3 显著性检验

Table 3 Significance test

Tukey多重比较检验	显著	P值	Tukey多重比较检验	显著	P值	Tukey多重比较检验	显著	P值
阿胶vs黄明胶	否	0.172 6	黄明胶vs龟甲胶	是	<0.000 1	鹿角胶vs新阿胶	是	<0.000 1
阿胶vs鹿角胶	是	<0.000 1	黄明胶vs鳖甲胶	是	<0.000 1	龟甲胶vs鳖甲胶	是	<0.000 1
阿胶vs龟甲胶	是	<0.000 1	黄明胶vs鹿骨胶	是	<0.000 1	龟甲胶vs鹿骨胶	是	<0.000 1
阿胶vs鳖甲胶	是	<0.000 1	黄明胶vs新阿胶	否	0.876 1	龟甲胶vs新阿胶	是	<0.000 1
阿胶vs鹿骨胶	是	<0.000 1	鹿角胶vs龟甲胶	否	>0.999 9	鳖甲胶vs鹿骨胶	是	<0.000 1
阿胶vs新阿胶	否	0.876 1	鹿角胶vs鳖甲胶	是	<0.000 1	鳖甲胶vs新阿胶	是	<0.000 1
黄明胶vs鹿角胶	是	<0.000 1	鹿角胶vs鹿骨胶	是	<0.000 1	鹿骨胶vs新阿胶	是	<0.000 1

将该矩阵数据导入 Past 3 软件进行分析，结果如图 5 所示。线性判别分析图中第 1 判别因子的方差贡献率为 95.06%，在 95%置信区间范围内，能够有效区分阿胶、新阿胶、鳖甲胶、鹿骨胶与龟甲胶（或鹿角胶）5 类样品；黄明胶分别与阿胶及新阿胶

的置信区间存在部分重叠，这可能源于三者同属皮胶，其胶原蛋白的氨基酸组成整体相似度高，导致传感阵列的响应信号区分度不高；鹿角胶与龟甲胶的置信椭圆也基本重合，推测是由于二者均为骨甲类胶，物质组成谱可能高度近似。

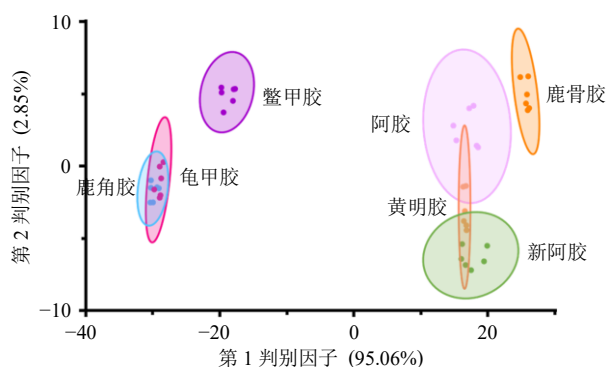


图5 线性判别分析结果 (95%置信区间)

Fig. 5 Linear discriminant analysis results (95% confidence interval)

进一步采用混淆矩阵模型验证分类准确性,从表4中可知,阿胶、黄明胶、鳖甲胶、鹿骨胶、新阿胶预测组有6个样品与真实组一致,说明这5类的分类准确率是100%。鹿角胶预测组有4个样品与真实组一致,有2个样品被预测为龟甲胶;龟甲胶预测组有5个样本与真实组一致,有1个样本被预测为鹿角胶。结果显示整体分类正确率为92.86%,说明该传感阵列在多数胶类中药区分中具有较好识别能力,但对鹿角胶和龟甲胶的区分效果仍存在一定局限,其分类准确率有待通过优化传感单元或结合更复杂的模式识别方法进一步提升。

表4 不同胶类中药荧光响应 LDA 模型的混淆矩阵

Table 4 Confusion matrix of LDA model in response to fluorescence of GCMs

真实组	预测组						
	阿胶	黄明胶	鹿角胶	龟甲胶	鳖甲胶	鹿骨胶	新阿胶
阿胶	6	0	0	0	0	0	0
黄明胶	0	6	0	0	0	0	0
鹿角胶	0	0	4	2	0	0	0
龟甲胶	0	0	1	5	0	0	0
鳖甲胶	0	0	0	0	6	0	0
鹿骨胶	0	0	0	0	0	6	0
新阿胶	0	0	0	0	0	0	6

3 讨论

本研究成功构建了一种基于超分子荧光传感阵列(QAC5A·EY、QAAC4A·EY、QAAC4A12C·EY、WTP3·Fl)的胶类中药快速区分方法。该体系对7种常见动物胶的整体分类正确率达到92.86%,显示出良好的区分能力。本研究将超分子传感技术创新性地应用于胶类中药的鉴别分析,所建立的方法具有操作简便、响应快速、灵敏度高、优势,为中药真

伪鉴别与质量控制提供了新的思路和方法。

3.1 传感阵列的整体性能与优势

胶类中药的主要成分为胶原蛋白及其水解产物(如多肽、氨基酸等)^[34],传统鉴别方法如色谱法、质谱法及免疫分析法虽能实现一定程度的区分,但往往面临仪器昂贵、前处理繁琐、耗时长等问题,难以满足基层质检或现场快检的需求,因此,发展一种操作便捷、响应灵敏且能捕获成分整体差异的新型分析策略具有重要意义。传感阵列的有效性主要源于其交叉响应机制。不同空腔结构、疏水性及电荷分布的主体分子能够选择性地与化学成分发生特异性结合,将微观的分子行为转换为可检测的荧光信号^[35]。这种仿生识别策略将复杂的基质体系转化为可量化的多维荧光数据,有效克服了传统分析方法在鉴别结构相近中药时面临的选择性不足等问题^[25-27]。

本研究构建的超分子传感阵列属于非靶向的指纹性分析方法,其区分机制并非依赖于对某一特定化学成分的识别,而是基于传感单元与胶类样品中多种成分(主要为胶原蛋白水解产生的多肽、氨基酸等)之间的交叉响应^[36]。不同物种来源的胶类(如驴皮阿胶、猪皮新阿胶、龟甲胶、鹿角胶等),其胶原蛋白的氨基酸序列存在物种依赖性差异,经提取后形成的多肽混合物在组成、丰度及空间构象上呈现整体性差异^[34,36]。本方法所响应的“特征性成分”并非单一化合物,而是胶类样品中能够被主体识别的成分的整体指纹特征。

在本研究的模型中,LDA分析第一判别因子的方差贡献率高达95.06%,说明所优选的4个传感单元所构成的“化学指纹”空间,能够有效捕获并放大绝大多数胶类样品间的整体差异。这得益于本研究所选用的QAC5A、QAAC4A、QAAC4A12C、WTP3大环主体具有特定的空腔尺寸、深穴结构及电荷分布,能够与这些胶类中药提取成分发生差异化的非共价相互作用(疏水作用、静电吸引、氢键等),从而将样品的整体成分特征转换为多维荧光信号,通过LDA实现阿胶、新阿胶、鳖甲胶、鹿骨胶及龟甲胶(或鹿角胶)的清晰区分。该方法操作简便、检测快速,为克服传统鉴别方法周期长、专业性要求高的局限提供了新思路,适用于企业现场抽样初筛及质量分级评估。但针对不同产地、批次原料的成分差异性,仍需进一步开发特异性的传感阵列提高检测稳健性。

3.2 特定样品组合判别局限性的成因分析

胶类中药化学成分的高度相似性^[37],是导致该模型判别困难的根本原因。尽管整体性能优异,模型对黄明胶与阿胶/新阿胶,以及鹿角胶与龟甲胶的判别仍存在局限。本研究采用超声水提法制备供试品溶液,该方法能有效提取胶类中的水溶性成分,主要包括小分子多肽和游离氨基酸^[38]。鹿角胶与龟甲胶均属骨甲类胶,其水提液的主要成分为胶原蛋白来源的氨基酸与多肽混合物,整体组成谱可能高度近似^[36]。若胶类中药差异性肽段在水提液中含量极低,未能产生显著差异的荧光响应,则其“化学指纹”在传感阵列空间中极易重叠。黄明胶(牛皮)与阿胶(驴皮)/新阿胶(猪皮)三者同属皮胶,其胶原蛋白的一级结构(氨基酸序列组成)本身具有较高的同源性。其水溶性小分子组分谱的差异小,水提液中富含的甘氨酸、脯氨酸、羟脯氨酸等通用氨基酸的片段可能占据主导,传感阵列对此类含有共性结构单元组成的成分区分度不足。

本研究构建的荧光传感阵列依赖于主客体间非共价相互作用,其对目标物的识别具有广谱响应性^[20]。这种设计有利于获得丰富的整体信息,但也可能导致对某些决定“物种身份”的微量特征成分的响应信号被掩盖在主要成分的强信号之下,从而降低了区分化学组成高度近似样品的能力。可从以下方面优化以提升鉴别能力:(1)扩充传感单元库,引入对离子、特定官能团或空间结构具有更高选择性的新型大环主体分子,以增强对特征微量成分的捕获能力;(2)结合化学计量学,采用随机森林、支持向量机等更能处理复杂非线性关系的算法,深度挖掘高维数据中的隐蔽差异;(3)利用超分子传感对(如WTP3-F1)对胶类中药的广谱响应优势,可通过衍生化修饰调控空腔极性,定向增强其对胶类中药(鹿角胶/龟甲胶)的特征分辨效能。因此,未来研究可以集中以下3个方面:一是针对常见掺伪模式(如牛皮源、马皮源掺入),设计特异性更强的传感单元或组合,探索其对掺伪样品的响应规律;二是结合特征肽靶向策略,尝试将超分子传感与LC-MS/MS特征肽检测形成互补技术体系,即传感阵列用于初筛,LC-MS/MS用于确证,从而更全面地解决胶类中药的真伪鉴别问题;三是进一步扩大样品集,收集不同产地、不同批次的样品及人工模拟掺伪样品,验证方法的稳健性和实用性。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 朱玲.《五十二病方》剂型考释 [J]. 中药材, 2007, 30(12): 1613-1615.
- [2] 赵振彪, 杨亚蕾. 阿胶古今功效考证 [J]. 中国民间疗法, 2021, 29(23): 18-21.
- [3] 中医药学名词审定委员会. 中医药学名词-2004 [M]. 北京: 科学出版社, 2005: 171-173.
- [4] Wang D L, Ru W W, Xu Y P, et al. Chemical constituents and bioactivities of *Colla Corii Asini* [J]. *Drug Discov Ther*, 2014, 8(5): 201-207.
- [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] 董洪霜, 张静娴, 胡青, 等. 胶类中药质量控制研究进展 [J]. 中草药, 2018, 49(13): 3166-3173.
- [7] Goodrum F, Theuri S, Mutua E, et al. The donkey skin trade: Challenges and opportunities for policy change [J]. *Glob Policy*, 2022, 13(2): 304-309.
- [8] 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.
- [9] 李文龙, 张淹, 刘海滨, 等. 胶类中药的质量控制方法研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(13): 2748-2752.
- [10] 薛小瑞, 张凯萍. 扩散映射联合 K 最近邻法算法助力空间偏移可见近红外光谱快速鉴别阿胶种类 [J]. 光散射学报, 2025, 37(1): 123-128.
- [11] 许长华, 周群, 孙素琴, 等. 二维相关红外光谱法与阿胶的真伪鉴别 [J]. 分析化学, 2005, 33(2): 221-224.
- [12] 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.
- [13] 于海英, 周永妍, 程秀民. 阿胶、龟甲胶中脂溶性成分的高效液相色谱指纹图谱 [J]. 色谱, 2009, 27(4): 447-452.
- [14] 中国药典 [S]. 一部. 2025: 189.
- [15] 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: 191-195.
- [16] Zhang J J, Lu Y H, Zheng S N, et al. Identification of donkey-hide gelatin and donkey-bone gelatin based on marker peptides [J]. *LWT*, 2023, 182: 114881.
- [17] 房芳, 张九凯, 马雪婷, 等. 基于特征肽段的阿胶中异源性物种鉴别 [J]. 食品科学, 2019, 40(16): 267-273.
- [18] 常青, 陈振江, 殷丹. 四种胶类药材及蜂王浆的高效电泳鉴别 [J]. 湖北中医学院学报, 2006, 8(4): 15-17.
- [19] Lv P, Zhao Y, Qi F, et al. Authentication of equine DNA

- from highly processed donkey-hide glue (*Colla Corii Asini*) using SINE element [J]. *J Food Drug Anal*, 2011, 19: 123-130.
- [20] Tian J H, Zheng Z, Pan Y C, *et al.* Macrocyclic-based differential sensing: Design strategies and applications [J]. *Responsive Mater*, 2025, 3(1): e20240036.
- [21] Duan Q P, Wang F, Lu K. Recent advances in macrocyclic arenes-based fluorescent indicator displacement assays [J]. *Front Chem*, 2022, 10: 973313.
- [22] Sedgwick A C, Brewster J T, Wu T H, *et al.* Indicator displacement assays (IDAs): The past, present and future [J]. *Chem Soc Rev*, 2021, 50(1): 9-38.
- [23] Wu X X, Haruna S A, Lv N Z, *et al.* Rapid identification of white tea based on colorimetric indicator displacement assay (IDA) sensor array [J]. *Food Control*, 2025, 168: 110884.
- [24] Jia M Y, Pan Y X, Zhou J B, *et al.* Identification of Chinese teas by a colorimetric sensor array based on tea polyphenol induced indicator displacement assay [J]. *Food Chem*, 2021, 335: 127566.
- [25] Tian J H, Hu X Y, Hu Z Y, *et al.* A facile way to construct sensor array library via supramolecular chemistry for discriminating complex systems [J]. *Nat Commun*, 2022, 13: 4293.
- [26] Tian J H, Lin Y L, Li J J, *et al.* Supramolecular fluorescence sensing for quality evaluation of traditional Chinese medicine [J]. *Arab J Chem*, 2023, 16(8): 104974.
- [27] Niu K J, Ye M Y, Lyu Y, *et al.* Facile calixarene-based sensor array strategy for quality evaluation of Yinxing Mihuan oral solution [J]. *RSC Adv*, 2025, 15(28): 22460-22468.
- [28] Wang D N, Li W H, Cheng W Q, *et al.* Guest adaptative supramolecular sensing strategy for warning the risky aflatoxins in contaminated cereals [J]. *J Hazard Mater*, 2024, 464: 133015.
- [29] Zhang Y P, Yu H J, Chai S W, *et al.* Noninvasive and individual-centered monitoring of uric acid for precaution of hyperuricemia via optical supramolecular sensing [J]. *Adv Sci*, 2022, 9(18): 2104463.
- [30] Zhang Z Z, Yue Y X, Xu L N, *et al.* Macrocyclic-amphiphile-based self-assembled nanoparticles for ratiometric delivery of therapeutic combinations to tumors [J]. *Adv Mater*, 2021, 33(12): 2007719.
- [31] Wang D N, Ye M Y, Yu H J, *et al.* Rapid detection of zearanol contamination in cereals using a quaternary ammonium-functionalized terphen [3] arene-based optical sensor [J]. *Foods*, 2025, 14(5): 863.
- [32] 邓书鸿, 郭传恩, 姜红, 等. 核磁共振指纹图谱用于阿胶的鉴别 [J]. 山东大学学报: 理学版, 2021, 56(7): 103-110.
- [33] 王晓坤, 程秀民, 于海英, 等. 阿胶水溶性成分 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 上海中医药杂志, 2008, 42(2): 66-69.
- [34] Hassan M, Hussain D, Kanwal T, *et al.* Methods for detection and quantification of gelatin from different sources [J]. *Food Chem*, 2024, 438: 137970.
- [35] You L, Zha D J, Anslyn E V. Recent advances in supramolecular analytical chemistry using optical sensing [J]. *Chem Rev*, 2015, 115(15): 7840-7892.
- [36] 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.
- [37] 朱连连, 窦德强. 阿胶、鹿皮胶中蛋白质及氨基酸含量测定 [J]. 亚太传统医药, 2018, 14(6): 48-50.
- [38] 肖枫, 朱文学. 响应面法优化超声辅助热水提取黄河鲤鱼鱼鳞明胶工艺 [J]. 食品科学, 2013, 34(22): 101-105.

[责任编辑 郑礼胜]