

- [13] 李卓群, 王海丽, 贵书琪, 等. 小儿感冒舒颗粒 HPLC 指纹图谱建立与化学模式识别[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(22): 2820-2825.
- [14] 周丽娟, 杨晓宁, 王雅芝, 等. 基于 HPLC-CAD 指纹图谱结合化学计量学方法分析不同产地北柴胡药材质量[J]. 中南药学, 2022, 20(10): 2253-2258.
- [15] 李惠敏, 李凤超, 高必兴, 等. 基于 HPLC 指纹图谱及化学模式识别对比研究曲花紫菀及同属药材[J]. 中草药, 2024, 55(5): 1709-1716.
- [16] 刘鑫, 蔺瑞丽, 倪琳, 等. 基于 HPLC 指纹图谱和多指标定量不同淫羊藿品种的比较研究[J]. 药物分析杂志, 2024, 44(9): 1613-1623.
- [17] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 1571.
- [18] 林欢欢, 邵长鑫, 彭婷, 等. 黄芩炮制的历史沿革及现代研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(3): 279-289.
- [19] Zhao T T, Tang H L, Xie L, et al. *Scutellaria baicalensis* Georgi. (Lamiaceae): A review of its traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology and toxicology[J]. *J Pharm Pharmacol*, 2019, 71(9): 1353-1369.
- [20] Hu L Q, Xiong Y, Zou Z R, et al. Identifying the chemical markers in raw and wine-processed *Scutellaria baicalensis* by ultra-performance liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry coupled with multiple statistical strategies[J]. *Biomed Chromatogr*, 2020, 34(8): e4849.

基于 HPLC 指纹图谱、含量测定及酶活性评价不同企业建曲质量

王瑞生¹, 张振凌^{1,2*}, 陈祎甜³, 孙梦梅⁴, 朱建光^{1,2*}

(1. 河南中医药大学, 豫药全产业链研发河南省协同创新中心, 河南省中药特色炮制技术工程研究中心, 河南省中药饮片炮制中医药重点实验室, 河南 郑州 450008; 2. 呼吸疾病中医药防治省部共建协同创新中心, 河南 郑州 450008; 3. 洛阳市妇幼保健院, 河南 洛阳 471099; 4. 浙江苏可安药业有限公司, 浙江 杭州 310000)

摘要: 目的 评价不同企业建曲质量。方法 建立 HPLC 指纹图谱, 测定柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、木犀草素、芹菜素含量, 以及淀粉酶、糖化酶、纤维素酶、蛋白酶(中性、酸性、碱性)活性, 再进行聚类分析。结果 18 批样品指纹图谱中有 28 个共有峰, 指出 11 个, 相似度 0.697~0.997。5 种成分含量分别为 0~0.022 7%、0.095 1%~0.326 2%、0~0.031 7%、0.000 7%~0.004 9%、0.004 0%~0.071 1%, 6 种酶活性分别为 8.71~88.25、17.67~370.13、7.97~61.21、5.21~22.05、5.13~20.66、6.22~20.96 U/g。各批样品聚为 4 类, 不同企业或同一企业不同批次的分类存在交叉。结论 不同企业建曲生产工艺不稳定, 应尽快规范其炮制工艺, 建立其质量标准。

关键词: 建曲; 质量评价; HPLC 指纹图谱; 含量测定; 酶活性; 聚类分析

中图分类号: R283

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2025)09-2848-08

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.09.004

Quality evaluation of Jianqu from different enterprises based on HPLC fingerprints, content determination and enzyme activity

WANG Rui-sheng¹, ZHANG Zhen-ling^{1,2*}, CHEN Yi-tian³, SUN Meng-mei⁴, ZHU Jian-guang^{1,2*}

(1. Henan Provincial Collaborative Innovation Center for Research and Development of Whole Industry Chain for Yu Yao, Henan Provincial Engineering Research Center for Special Processing Technology of Traditional Chinese Medicines, Henan Provincial Traditional Chinese Medicine Key Laboratory for Processing of Chinese Herbal Medicine Slices, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China; 2. Collaborative Innovation Center for Traditional Chinese Medicine in Preventing and Treating of Respiratory Diseases Co-founded by Henan Province and MOST, Zhengzhou 450008, China;

收稿日期: 2025-01-20

基金项目: 国家公益行业专项-中药炮制技术传承基地建设(38103021-2022); 河南省科技研发计划联合基金项目(222301420076); 河南省高等学校重点科研项目计划(22B360004)

作者简介: 王瑞生(1990—), 男, 博士, 讲师, 从事中药饮片质量及其炮制机制研究。E-mail: wrsh900226@163.com

* 通信作者: 张振凌(1957—), 女, 教授, 从事中药饮片质量及其炮制机制研究。E-mail: zhangz6758@163.com

朱建光(1974—), 男, 博士, 教授, 从事中药饮片质量及其炮制机制研究。E-mail: 13503859285@139.com

3. Luoyang Municipal Maternal and Child Health Hospital, Luoyang 471099, China; 4. Zhejiang Sukean Pharmaceutical Co., Ltd., Hangzhou 310000, China)

KEY WORDS: Jianqu; quality evaluation; HPLC fingerprints; content determination; enzyme activity; cluster analysis

建曲是一种由麦麸、面粉和数十种中药细粉混合发酵制成的加工品,具有解表和中、消食化积、健脾和胃、理气化湿、芳香化浊功效^[1],但目前各版《中国药典》均未记载,而且在各省市炮制规范及药材标准中的分类不统一,四川省中药材标准(1987年版)将其作为中药材,《卫生部药品标准》将其当作中药成药制剂,江苏、江西、四川、重庆、陕西、宁夏、浙江、湖北、河南、黑龙江、天津、云南、湖南中药饮片炮制规范中将其归为中药饮片^[2-14]。市场调研显示,不同企业建曲处方大多采用《中华人民共和国卫生部药品标准》(中药成方制剂第十七册)收载者,但原料来源、炮制工艺存在差异,并且发酵过程中消化酶活性、化学成分变化及建曲微生物菌群分离鉴定方面鲜有研究报道。

课题组前期发现,建曲发酵后柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、木犀草素、芹菜素含量升高,并且发酵过程中微生物生长代谢,产生多种酶类物质,代表了糖化力、酯化力、发酵力等^[15],为相关功效研究提供了关键支持。在此基础上,本实验以外观性状、淀粉酶、糖化酶、纤维素酶、蛋白酶活性,柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、木犀草素、芹菜素含量为指标,对不同企业建曲质量进行评价,以期为其炮制工艺优化和质量标准完善提供参考。

1 材料

1.1 仪器 Waters2489UV/Visible型半自动高效液相色谱仪(美国Waters公司);KQ-500DV型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);DHG-9077A型电热恒温干燥箱(上海精宏实验设备有限公司);BSA224S-CW型电子天平(万分之一)、BT25S型电子天平(十万分之一)(北京赛多利斯科学仪器有限公司);UPT-II-10T型超纯水器(成都超纯科技有限公司);GTR16-2型高速离心机(北京时代北利离心机有限公司);UV-3200S型紫外可见分光光度计(上海美普达仪器有限公司);SX811型便携式PH计(上海三信仪表厂);400Y型多功能粉碎机(永康市铂欧五金制品有限公司)。

1.2 试剂 隐绿原酸、木犀草素、槲皮苷、咖啡

酸、芹菜素、香草酸、阿魏酸、东莨菪内酯、滨蒿内酯、橙皮苷、新橙皮苷、广藿香酮、厚朴酚、和厚朴酚、木香烯内酯、欧前胡素、柚皮苷、 α -香附酮、麦芽糖、葡萄糖对照品(成都普思生物科技股份有限公司,批号PS14011403、PS10320025、PS010791、PS010522、PS000755、PS010559、PS000097、PS011029、PS020012、PS011588、PS010413、PS000401、PS010353、PS011061、PS012275、PS010561、PS012062、PS010757、PS50997、PS6363537,纯度 $\geq 98\%$);甘草酸对照品(四川省维克奇生物科技股份有限公司,批号150823,纯度 $\geq 98\%$);山柰素对照品(成都曼斯特生物科技有限公司,批号MVST-16041502,纯度 $\geq 98\%$);桂皮醛对照品(中国食品药品检定研究院,批号110710-201217,纯度 $\geq 98\%$)。柠檬酸、柠檬酸钠、氢氧化钠、磷酸氢二钠(分析纯,天津市风船化学试剂科技有限公司,批号20190408、20190602、20181105、20181203);可溶性淀粉(分析纯,天津欧博凯化工有限公司,批号20200315);酒石酸钾钠、羧甲基纤维素钠(分析纯,天津市福晨化学试剂厂,批号20170221、20160401);3,5-二硝基水杨酸(分析纯,上海科丰实业有限公司,批号20180705);苯酚(分析纯,开封化学试剂总厂,批号20180903);冰醋酸、三氯乙酸(分析纯,批号20180813、20190312),冰醋酸、甲酸(色谱纯,批号20180813、20190517)(天津市大茂化学试剂厂);三水合乙酸钠、乳酸钠(分析纯,批号20180512、20180609),磷酸(色谱纯,批号20190719)(天津市科密欧化学试剂有限公司);磷酸二氢钠、干酪素(分析纯,天津市光复科技发展有限公司,批号20180327、20190418);无水碳酸钠(分析纯,天津市瑞金特化学品有限公司,批号20170208);福林酚、十水四硼酸钠甲醇(分析纯,上海源叶生物科技有限公司,批号20190618、1303964);酪氨酸(分析纯,中国食品药品检定研究院,批号140624-200805);浓盐酸(分析纯,烟台市双双化工有限公司,批号20121003);乳酸(分析纯,天津市河东区红岩试剂厂,批号

20190725); 无水乙醇 (分析纯, 天津市富宇精细化工有限公司, 批号 20190522、20190115); 甲醇、乙腈 (色谱纯, 美国 Tedia 公司, 批号 20190891、20190911); 水 (超纯水)。

1.3 药材 建曲共 18 批, 具体见表 1。

表 1 建曲信息

Tab. 1 Information of Jianqu

编号	批号	产地	生产企业	规格
S1	181101	四川雅安	A1	500 g/袋
S2	180401	四川简阳	A2	500 g/袋
S3	191102	四川简阳	A2	500 g/袋
S4	191001	四川简阳	A2	500 g/袋
S5	191101	四川简阳	A2	500 g/袋
S6	190201	四川内江	A3	500 g/袋
S7	190701	四川内江	A3	500 g/袋
S8	190801	四川内江	A3	500 g/袋
S9	20180701	四川内江	A4	500 g/袋
S10	20190203	四川内江	A4	500 g/袋
S11	181001	四川内江	A5	500 g/袋
S12	181003	四川内江	A5	500 g/袋
S13	1905011	福建泉州	A6	30 g/块×10 块
S14	1908001	福建泉州	A6	30 g/块×10 块
S15	19090101	四川成都	A7	500 g/袋
S16	19090201	四川成都	A7	500 g/袋
S17	19060201	四川成都	A7	250 g/袋
S18	190806	河南洛阳	A8	500 g/袋

2 方法与结果

2.1 外观性状 见表 2。

表 2 建曲外观性状

Tab. 2 Appearance traits of Jianqu

编号	外观性状
S1	薄块状, 棕褐色, 可见白色霉斑, 质地坚硬, 不易破碎
S2	块状, 棕色, 无白色霉斑, 质地疏松, 易破碎
S3	块状, 棕色, 无白色霉斑, 质地疏松, 易破碎
S4	块状, 棕色, 无白色霉斑, 质地疏松, 易破碎
S5	块状, 棕色, 无白色霉斑, 质地疏松, 易破碎
S6	块状, 棕褐色, 无白色霉斑, 质地疏松, 易破碎
S7	块状, 棕褐色, 无白色霉斑, 质地疏松, 易破碎
S8	块状, 棕褐色, 无白色霉斑, 质地疏松, 易破碎
S9	块状, 较大, 棕褐色, 无白色霉斑, 质地疏松, 易破碎
S10	薄块状, 棕褐色, 无白色霉斑, 质地疏松, 易破碎
S11	块状, 浅棕褐色, 无白色霉斑, 质地疏松, 易破碎
S12	块状, 浅棕褐色, 无白色霉斑, 质地疏松, 易破碎
S13	块状, 浅褐色, 无白色霉斑, 质地坚硬, 不易破碎
S14	块状, 较大, 灰褐色, 稍弯曲, 质地坚硬, 不易破碎
S15	块状, 棕褐色, 无白色霉斑, 质地疏松, 易破碎
S16	块状, 棕褐色, 无白色霉斑, 质地疏松, 易破碎
S17	块状, 浅棕褐色, 无白色霉斑, 质地疏松, 易破碎
S18	小块状, 棕褐色, 无白色霉斑, 质地坚硬, 不易破碎

2.2 HPLC 指纹图谱建立

2.2.1 色谱条件 Waters SunFire C₁₈ 色谱柱 (250

mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相乙腈 (A) -0.1% 乙酸 (B), 梯度洗脱 (0~25 min, 5%~12% A; 25~55 min, 12%~25% A; 55~100 min, 25%~60% A; 100~110 min, 60%~80% A; 110~120 min, 80%~5% A); 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 ℃; 检测波长 280 nm; 进样量 10 μL。

2.2.2 供试品溶液制备 精密称取 18 批样品, 每批 2.0 g, 置于 150 mL 锥形瓶中, 加入 25 mL 甲醇, 称定质量, 超声处理 30 min, 取出, 放冷, 甲醇补足减失的质量, 过滤, 滤液 70 ℃ 水浴挥干, 残渣加甲醇溶解, 定容至 10 mL 量瓶中, 混匀, 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 即得。

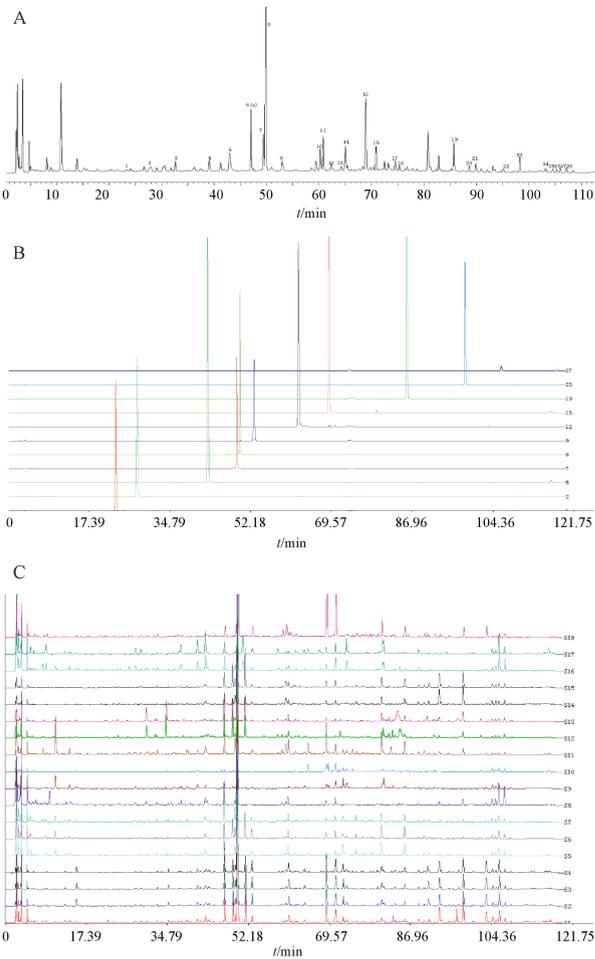
2.2.3 方法学考察

2.2.3.1 精密度试验 精密吸取供试品溶液 10 μL, 在“2.2.1”项色谱条件下进样测定 6 次, 以 6 号峰为参照 (S), 测得各共有峰相对保留时间 RSD 为 0.06%~0.23%, 相对峰面积 RSD 为 0.55%~4.32%, 表明仪器精密度良好。

2.2.3.2 重复性试验 精密称取同一批样品, 按“2.2.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 在“2.2.1”项色谱条件下进样测定, 以 6 号峰为参照 (S), 测得各共有峰相对保留时间 RSD 为 0.07%~0.35%, 相对峰面积 RSD 为 0.68%~3.45%, 表明该方法重复性良好。

2.2.3.3 稳定性试验 精密吸取供试品溶液 10 μL, 于 0、2、4、6、8、10、12 h 在“2.2.1”项色谱条件下进样测定, 以 6 号峰为参照 (S), 测得各共有峰相对保留时间 RSD 为 0.03%~0.49%, 相对峰面积 RSD 为 0.96%~3.78%, 表明溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.2.4 图谱生成 精密称取 18 批样品适量, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 在“2.2.1”项色谱条件下进样测定, 将相关数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2004A 版), 设定 S1 作为参照进行色谱峰匹配, 时间窗宽度为 0.10 min, 平均数法生成对照图谱, 共标定了 28 个共有峰, 见图 1。与对照品比对后, 确定 11 种成分, 分别为峰 1 (紫丁香苷)、峰 2 (香草酸)、峰 5 (阿魏酸)、峰 7 (槲皮苷)、峰 8 (橙皮苷)、峰 9 (滨蒿内酯)、峰 12 (木犀草素)、峰 15 (芹菜素)、峰 19 (桔红素)、峰 23 (厚朴酚)、峰 27 (甘草酸), 并以 6 号峰为参照 (S), 测得其余共有峰相对保留时间为 0.495~2.273, 相对峰面积为 0.019~6.241。



1. 紫丁香苷 2. 香草酸 5. 阿魏酸 7. 槲皮苷 8. 橙皮苷
9. 滨蒿内酯 12. 木犀草素 15. 芹菜素 19. 桔红素
23. 厚朴酚 27. 甘草酸

1. syringin 2. vanillic acid 5. ferulic acid 7. quercitrin
8. hesperidin 9. scoparone 12. luteolin 15. apigenin
19. tangeretin 23. magnolol 27. glycyrrhizic acid

图1 建曲对照指纹图谱 (A)、对照品图谱 (B)、HPLC 指纹图谱 (C)

Fig. 1 Reference fingerprint (A), reference substance chromatogram (B) and HPLC fingerprints (C) for Jianqu

2.2.5 相似度分析 结果见表3, 可知在0.697~0.997范围内, 指纹图谱能有效区分不同企业样品。

2.3 含量测定 采用HPLC法。

2.3.1 色谱条件 Waters SunFire C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相乙腈 (A) -0.1% 乙酸 (B), 梯度洗脱 (0~15 min, 20%~25% A; 15~40 min, 25%~55% A; 40~45 min, 55%~20% A); 体积流量1.0 mL/min; 柱温30℃; 检测波长280 nm; 进样量10 μL。

2.3.2 对照品溶液制备 精密称取柚皮苷、橙皮

苷、新橙皮苷、木犀草素、芹菜素对照品适量, 甲醇制成1.0 mg/mL母液, 精密移取适量, 制成质量浓度分别为0.090 4、0.568 5、0.064 8、0.033 3、0.088 2 mg/mL的溶液, 混匀, 即得, 稀释成不同质量浓度溶液。

2.3.3 供试品溶液制备 精密称取不同发酵时间样品各1.0 g, 置于150 mL锥形瓶中, 加入25 mL甲醇, 称定质量, 超声处理30 min, 取出, 放冷, 甲醇补足减失的质量, 过滤, 滤液70℃水浴挥干, 残渣加甲醇溶解, 定容至10 mL量瓶中, 混匀, 过0.22 μm微孔滤膜, 即得。

2.3.4 方法学考察

2.3.4.1 线性关系考察 精密吸取不同质量浓度对照品溶液各10 μL, 在“2.3.1”项色谱条件下进样测定。以进样量为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y) 进行回归, 得方程分别为柚皮苷 $Y=1\ 777\ 120.590X-6\ 902.098$ ($R^2=1.000\ 0$), 线性范围0.011 3~0.723 2 μg; 橙皮苷 $Y=1\ 529\ 123.153X-48\ 807.224$ ($R^2=1.000\ 0$), 线性范围0.568 5~6.821 8 μg; 新橙皮苷 $Y=1\ 75\ 185.081X-16\ 185.075$ ($R^2=0.999\ 9$), 线性范围0.008 1~0.777 6 μg; 木犀草素 $Y=1\ 733\ 238.192X-5\ 275.340$ ($R^2=1.000\ 0$), 线性范围0.008 5~0.199 7 μg; 芹菜素 $Y=1\ 799\ 382.435X-12\ 156.713$ ($R^2=1.000\ 0$), 线性范围0.044 1~1.058 4 μg。

2.3.4.2 精密度试验 取“2.3.2”项下对照品溶液适量, 在“2.3.1”项色谱条件下进样测定6次, 测得柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、木犀草素、芹菜素峰面积RSD分别为1.49%、1.98%、1.99%、0.55%、2.29%, 表明仪器精密度良好。

2.3.4.3 重复性试验 取同一批样品6份, 按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液, 在“2.3.1”项色谱条件下进样测定, 测得柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、木犀草素、芹菜素峰面积RSD分别为0.64%、0.38%、1.21%、0.70%、0.30%, 表明该方法重复性良好。

2.3.4.4 稳定性试验 取同一份供试品溶液, 于0、2、4、8、12、24 h在“2.3.1”项色谱条件下进样测定, 测得柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、木犀草素、芹菜素峰面积RSD分别为1.18%、0.74%、1.19%、1.01%、0.83%, 表明溶液在24 h内稳定性良好。

2.3.4.5 加样回收率试验 精密称取各成分含量

表3 相似度测定结果
Tab.3 Results for similarity determination

编号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18	对照
S1	1.000	0.864	0.869	0.869	0.876	0.792	0.803	0.886	0.806	0.697	0.849	0.840	0.816	0.822	0.839	0.848	0.844	0.807	0.884
S2	0.864	1.000	0.973	0.974	0.972	0.884	0.778	0.889	0.848	0.803	0.965	0.969	0.948	0.941	0.947	0.967	0.952	0.919	0.976
S3	0.869	0.973	1.000	0.999	0.997	0.881	0.767	0.902	0.849	0.766	0.978	0.975	0.966	0.974	0.980	0.980	0.975	0.942	0.991
S4	0.869	0.974	0.999	1.000	0.997	0.882	0.766	0.903	0.848	0.765	0.979	0.975	0.967	0.975	0.982	0.982	0.976	0.942	0.992
S5	0.876	0.972	0.997	0.997	1.000	0.882	0.770	0.905	0.851	0.767	0.980	0.972	0.964	0.974	0.982	0.979	0.977	0.944	0.992
S6	0.792	0.884	0.881	0.882	0.882	1.000	0.804	0.870	0.837	0.837	0.859	0.848	0.870	0.858	0.889	0.896	0.896	0.857	0.907
S7	0.803	0.778	0.767	0.766	0.770	0.804	1.000	0.772	0.752	0.764	0.738	0.736	0.731	0.723	0.743	0.756	0.748	0.734	0.790
S8	0.886	0.889	0.902	0.903	0.905	0.870	0.772	1.000	0.894	0.746	0.895	0.878	0.875	0.877	0.905	0.908	0.909	0.851	0.928
S9	0.806	0.848	0.849	0.848	0.851	0.837	0.752	0.894	1.000	0.840	0.836	0.818	0.833	0.826	0.851	0.854	0.860	0.846	0.886
S10	0.697	0.803	0.766	0.765	0.767	0.837	0.764	0.746	0.840	1.000	0.753	0.733	0.751	0.730	0.773	0.791	0.797	0.777	0.808
S11	0.849	0.965	0.978	0.979	0.980	0.859	0.738	0.895	0.836	0.753	1.000	0.981	0.955	0.964	0.969	0.970	0.967	0.933	0.980
S12	0.840	0.969	0.975	0.975	0.972	0.848	0.736	0.878	0.818	0.733	0.981	1.000	0.961	0.963	0.951	0.976	0.947	0.911	0.972
S13	0.816	0.948	0.966	0.967	0.964	0.870	0.731	0.875	0.833	0.751	0.955	0.961	1.000	0.977	0.964	0.971	0.961	0.921	0.972
S14	0.822	0.941	0.974	0.975	0.974	0.858	0.723	0.877	0.826	0.730	0.964	0.963	0.977	1.000	0.976	0.974	0.968	0.931	0.976
S15	0.839	0.947	0.980	0.982	0.982	0.889	0.743	0.905	0.851	0.773	0.969	0.951	0.964	0.976	1.000	0.985	0.996	0.952	0.987
S16	0.848	0.967	0.980	0.982	0.979	0.896	0.756	0.908	0.854	0.791	0.970	0.976	0.971	0.974	0.985	1.000	0.986	0.939	0.990
S17	0.844	0.952	0.975	0.976	0.977	0.896	0.748	0.909	0.860	0.797	0.967	0.947	0.961	0.968	0.996	0.986	1.000	0.951	0.987
S18	0.807	0.919	0.942	0.942	0.944	0.857	0.734	0.851	0.846	0.777	0.933	0.911	0.921	0.931	0.952	0.939	0.951	1.000	0.954
对照	0.884	0.976	0.991	0.992	0.992	0.907	0.790	0.928	0.886	0.808	0.980	0.972	0.972	0.976	0.987	0.990	0.987	0.954	1.000

已知的样品 0.5 g, 平行 6 份, 加入适量对照品, 按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液, 在“2.3.1”项色谱条件下进样测定, 计算回收率。结果, 柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、木犀草素、芹菜素平均加样回收率分别为 96.96%、103.68%、97.99%、97.33%、102.16%, RSD 分别为 1.42%、0.97%、1.91%、2.27%、1.04%。

2.3.5 样品含量测定 表 4 显示, S17、S18 中未检测出柚皮苷, S13 中其含量最高; S7 中橙皮苷含量最低, S15 中最高; S8、S17、S18 中未检测到新橙皮苷, S12 中其含量最高; S18 中木犀草素含量最低, S10 中最高; S6 中芹菜素含量最低, S1 中最高。表 5 显示, 不同企业样品中各成分总含量依次为 A6>A2>A7>A1>A8>A5>A4>A3。

表 4 不同批次建曲中各成分含量测定结果 (%)

Tab.4 Results for content determination of various constituents in different batches of Jianqu (%)

编号	柚皮苷	橙皮苷	新橙皮苷	木犀草素	芹菜素
S1	0.000 9	0.181 2	0.001 6	0.003 5	0.071 1
S2	0.019 4	0.180 9	0.022 8	0.001 9	0.018 0
S3	0.015 0	0.256 4	0.017 1	0.001 4	0.016 8
S4	0.015 9	0.271 1	0.018 1	0.001 9	0.017 5
S5	0.011 5	0.255 0	0.013 3	0.001 6	0.017 6
S6	0.002 3	0.069 6	0.001 3	0.001 5	0.003 7
S7	0.001 6	0.030 9	0.001 2	0.002 0	0.010 1
S8	0.000 8	0.172 0	—	0.004 4	0.035 5
S9	0.000 9	0.126 5	0.010 4	0.002 7	0.007 8
S10	0.001 5	0.095 1	0.022 8	0.004 9	0.009 2
S11	0.006 1	0.138 3	0.007 8	0.001 3	0.004 2
S12	0.020 8	0.171 1	0.031 7	0.001 9	0.007 3
S13	0.022 7	0.214 2	0.019 4	0.002 3	0.004 4
S14	0.019 4	0.292 6	0.019 8	0.002 9	0.004 0
S15	0.001 6	0.326 2	0.001 1	0.001 8	0.004 4
S16	0.017 5	0.220 2	0.022 0	0.002 5	0.007 6
S17	—	0.234 7	—	0.002 0	0.004 2
S18	—	0.231 6	—	0.000 7	0.005 1

表5 不同企业建曲中各成分含量测定结果 (%)

Tab. 5 Results for content determination of various constituents in Jianqu from different enterprises (%)

企业	柚皮苷	橙皮苷	新橙皮苷	木犀草素	芹菜素	总含量
A1	0.000 9	0.181 2	0.001 6	0.003 5	0.071 1	0.258 3
A2	0.015 4	0.240 9	0.017 8	0.001 7	0.017 5	0.293 4
A3	0.001 6	0.090 9	0.000 8	0.002 6	0.016 4	0.112 3
A4	0.001 2	0.110 8	0.016 6	0.003 8	0.008 5	0.140 9
A5	0.013 4	0.154 7	0.019 8	0.001 6	0.005 8	0.195 3
A6	0.021 1	0.253 4	0.019 6	0.002 6	0.004 2	0.300 8
A7	0.006 4	0.260 4	0.007 7	0.002 1	0.005 4	0.281 9
A8	—	0.231 6	—	0.000 7	0.005 1	0.237 4

2.4 酶活性检测

2.4.1 淀粉酶 精密称取样品0.2 g (过5号筛), 置于10 mL离心管中, 加入5 mL柠檬酸缓冲液 (pH=5.6), 40 °C水浴浸提30 min, 每隔10 min振摇1次, 取出, 4 000 r/min离心10 min, 取上清液, 作为原酶液, 使用时稀释至适宜倍数。取稀释酶液1 mL, 加入1 mL柠檬酸缓冲液 (pH=5.6), 40 °C水浴保温15 min, 加入2 mL 40 °C水浴保温的1%淀粉溶液, 混匀, 40 °C水浴反应5 min, 取出, 迅速加入2 mL 0.4 mol/L NaOH溶液, 取2 mL反应液, 加入2 mL DNS试剂, 沸水中反应5 min, 流动水迅速冷却, 蒸馏水定容至20 mL, 混匀, 在520 nm波长处测定吸光度, 计算酶活性, 以蒸馏水为空白对照^[15] (在上述反应体系中, 40 °C时每1 min水解可溶性淀粉产生1 μmol麦芽糖所需的酶量, 定义为1个淀粉酶活性单位, 即U/g^[16])。

2.4.2 糖化酶 精密称取样品0.2 g (过5号筛), 置于10 mL离心管中, 加入5 mL乙酸-乙酸钠缓冲液 (pH=4.6), 50 °C水浴浸提30 min, 每隔10 min振摇1次, 取出, 4 000 r/min离心10 min, 取上清液, 作为原酶液, 使用时稀释至适宜倍数。取稀释酶液1 mL, 50 °C水浴5 min, 加入2 mL 50 °C水浴保温的1%淀粉溶液, 混匀, 50 °C水浴反应5 min, 取出, 迅速加入2 mL 0.4 mol/L NaOH溶液, 取2 mL反应液, 加入2 mL DNS试剂, 沸水浴反应5 min, 冷却, 蒸馏水定容至20 mL, 混匀, 在520 nm波长处测定吸光度, 计算糖化酶活性, 以蒸馏水为空白对照^[17] (在上述反应体系中, 50 °C时每1 min水解可溶性淀粉产生1 μmol葡萄糖所需的酶量, 定义为1个糖化酶活性单位, 即U/g^[18])。

2.4.3 纤维素酶 精密称取样品0.2 g (过5号筛), 置于10 mL离心管中, 加入5 mL柠檬酸缓冲液 (pH=5.0), 50 °C水浴浸提30 min, 每隔10 min振摇1次, 取出, 4 000 r/min离心10 min, 取

上清液, 作为原酶液, 使用时稀释至适宜倍数。取1%羧甲基纤维素钠 (CNC-Na) 溶液1.5 mL, 50 °C水浴预热5 min, 加入稀释酶液0.5 mL, 混匀, 50 °C水浴反应40 min, 加入1.5 mL DNS试剂, 沸水浴反应5 min, 冷却, 蒸馏水定容至10 mL, 混匀, 在520 nm波长处测定吸光度, 计算酶活性, 以蒸馏水为空白对照^[19] (在上述反应体系中, 50 °C时每1 min水解底物产生1 μmol葡萄糖所需的酶量, 定义为1个纤维素酶活性单位, 即U/g^[20])。

2.4.4 蛋白酶 精密称取样品0.2 g (过5号筛), 置于10 mL离心管中, 加入磷酸缓冲液 (pH=7.5, 用于中性蛋白酶活性检测)、乳酸钠缓冲液 (pH=3.0, 用于酸性蛋白酶活性检测)、硼酸缓冲液 (pH=10.5, 用于碱性蛋白酶活性检测) 各5 mL, 40 °C水浴浸提30 min, 每隔10 min振摇1次, 取出, 4 000 r/min离心10 min, 取上清液, 作为原酶液, 取1 mL, 相应缓冲液稀释至适宜倍数, 作为稀释酶液。1%酪蛋白溶液40 °C水浴预热5 min, 取1 mL稀酶液, 40 °C水浴预热2 min, 加1 mL 1%酪蛋白溶液, 混匀, 40 °C水浴反应10 min, 加入2 mL三氯乙酸停止反应, 摇匀, 静置10 min, 过滤, 取1 mL滤液, 加入5 mL碳酸钠溶液、1 mL福林酚试剂, 40 °C水浴显色20 min, 在680 nm波长处测定吸光度, 计算酶活性, 以蒸馏水为对照^[21] (在上述反应体系中, 40 °C时每1 min水解底物产生1 μg酪氨酸所需的酶量, 定义为1个蛋白酶活性单位, 即U/g^[22])。

2.4.5 结果分析 表6显示, S16中淀粉酶活性最高, S7中最低, 企业A2的4批样品 (S2~S5) 中差异最大; S18中糖化酶活性最高, S7中最低, 企业A2的4批样品中差异最大; S18中纤维素酶活性最高, S7中最低, 企业A2的4批样品中差异最大; S9中中性蛋白酶活性最高, S7中最低, 企

业 A3 的 3 批样品 (S6~S8) 中差异最大; S9 中酸性蛋白酶活性最高, S7 中最低, 企业 A3 的 3 批样品中差异最大; S9 中碱性蛋白酶活性最高, S7 中

最低, 企业 A3 的 3 批样品中差异最大。表 7 显示, 不同企业样品中总酶活性依次为 A8>A7>A4>A2>A1>A6>A5>A3。

表 6 不同批次建曲中酶活性检测结果 (U/g)

Tab. 6 Results for enzyme activity detection in various batches of Jianqu (U/g)

编号	淀粉酶	糖化酶	纤维素酶	中性蛋白酶	酸性蛋白酶	碱性蛋白酶
S1	35.78	79.55	33.34	15.79	14.79	15.99
S2	82.13	154.05	59.64	11.23	10.58	12.92
S3	37.74	75.65	34.84	11.04	9.70	13.06
S4	38.05	75.92	34.49	10.77	9.79	12.70
S5	35.06	63.71	29.55	10.88	9.96	12.96
S6	14.61	26.59	12.57	8.25	7.65	9.44
S7	8.71	17.67	7.97	5.21	5.13	6.22
S8	28.47	49.71	20.36	17.65	16.67	18.19
S9	40.05	77.06	33.52	22.05	20.66	20.96
S10	55.13	113.54	42.23	16.01	14.02	16.53
S11	17.12	115.98	17.14	7.38	7.06	10.21
S12	17.70	85.44	16.43	8.42	7.67	10.90
S13	32.58	81.55	35.88	12.83	13.25	13.19
S14	24.83	52.92	23.11	11.08	11.15	12.25
S15	78.72	143.87	29.03	9.27	9.08	11.17
S16	88.25	152.20	30.15	9.90	9.56	11.27
S17	86.02	156.91	30.64	9.33	9.42	10.45
S18	71.72	370.13	61.21	14.23	15.06	12.92

表 7 不同企业建曲中酶活性检测结果 (U/g)

Tab. 7 Results for enzyme activity detection in Jianqu from different enterprises (U/g)

企业	淀粉酶	糖化酶	纤维素酶	中性蛋白酶	酸性蛋白酶	碱性蛋白酶	总活性
A1	35.78	79.55	33.34	15.79	14.79	15.99	195.24
A2	48.24	92.33	39.63	10.98	10.01	12.91	214.10
A3	17.26	31.32	13.63	10.37	9.82	11.28	93.68
A4	47.59	95.30	37.88	19.03	17.34	18.74	235.88
A5	17.41	100.71	16.79	7.90	7.36	10.56	160.73
A6	28.71	67.24	29.49	11.96	12.20	12.72	162.31
A7	84.33	150.99	29.94	9.50	9.35	10.96	295.09
A8	71.72	370.13	61.21	14.23	15.06	12.92	545.27

2.5 聚类分析 采用 SPSS 20.0 软件进行标准化处理和聚类分析^[23], 结果见图 2。由此可知, 类间距离为 5~10 时, 18 批样品聚为 4 类, S2~S5、S12、S13~S14、S16 为 I 类, S15~S17、S18 为 II 类, S6~S7、S11 为 III 类, S1、S8、S9~S10 为 IV 类, 并且不同企业、批次样品分类存在交叉现象, 同一企业样品也未聚为一类, 表明其质量存在一定差异。

3 讨论

3.1 前期调研 课题组前期通过文献检索收集到 32 个建曲处方, 发现其药物组成最少 14 味, 最多 64 味, 用量也有所不同, 并且存在分类不清晰、处方不固定、功效主治不统一、质量标准不明确等问题。

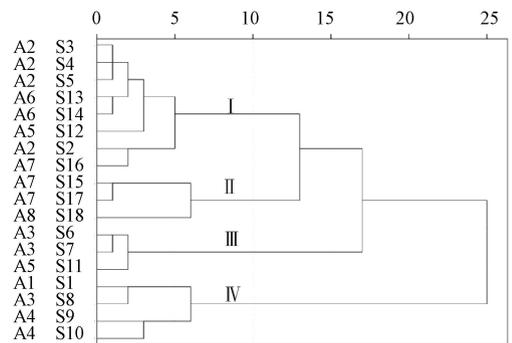


图 2 18 批建曲聚类分析图

Fig. 2 Cluster analysis plot for 18 batches Jianqu

3.2 质量分析 本实验建立 18 批建曲 HPLC 指纹图谱, 发现不同企业样品中成分种类存在一定差异; 共有峰相对峰面积 RSD 相差较大, 表明成分含量也有明显不同; 企业 A1 样品中柚皮苷、橙皮

苷、新橙皮苷、木犀草素、芹菜素总含量最高，与文献记载“出福建泉州府，开元寺造者佳”相符；企业 A8 样品中总消化酶活性最高，可能与处方组成、原料来源、炮制工艺、发酵环境、贮存时间、保藏方法相关。为了更好地控制建曲质量，保证其临床疗效，应尽快规范炮制工艺，完善质量标准。

4 结论

本实验建立建曲 HPLC 指纹图谱，并测定消化酶活性及柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、木犀草素、芹菜素含量，可更客观全面地评价不同企业药材质量，为其炮制工艺优化和质量标准制定提供了依据，也为提高其临床疗效奠定了基础。

参考文献：

[1] 王瑞生, 李德华, 张振凌, 等. 部颁方建曲发酵炮制对高脂血症大鼠的降脂作用机制研究[J]. 中药药理与临床, 2023, 39(10): 41-48.

[2] 江苏省药品监督管理局. 江苏省中药饮片炮制规范(2002年版)[S]. 南京: 江苏科学技术出版社, 2002: 502.

[3] 江西省食品药品监督管理局. 江西省中药饮片炮制规范(2008年版)[S]. 上海: 上海科学技术出版社, 2009: 566.

[4] 四川省食品药品监督管理局. 四川省中药饮片炮制规范(2015年版)[S]. 成都: 四川科学技术出版社, 2016: 217.

[5] 重庆市食品药品监督管理局. 重庆市中药饮片炮制规范及标准(2006年版)[S]. 重庆: 重庆大学出版社, 2005: 157.

[6] 陕西省食品药品监督管理局. 陕西省中药饮片标准(第一册)[S]. 西安: 陕西科学技术出版社, 2008: 134.

[7] 宁夏食品药品监督管理局. 宁夏中药饮片炮制规范(2017年版)[S]. 银川: 阳光出版社, 2017: 154.

[8] 浙江省食品药品监督管理局. 浙江省中药炮制规范(2015年版)[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2016: 434-435.

[9] 湖北省药品监督管理局. 湖北省中药饮片炮制规范(2018年版)[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2019: 76.

[10] 河南省食品药品监督管理局. 河南省中药饮片炮制规范(2022年版)[S]. 郑州: 河南科学技术出版社, 2022: 386.

[11] 黑龙江省食品药品监督管理局. 黑龙江省中药饮片炮制规范及标准(2012年版)[S]. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 2012: 230.

[12] 天津市市场和质量管理委员会. 天津市中药饮片炮制规范(2018年版)[S]. 2018: 224.

[13] 云南省食品药品监督管理局. 云南省中药饮片标准(2005年版)[S]. 昆明: 云南美术出版社, 2005: 117.

[14] 湖南省食品药品监督管理局. 湖南省中药饮片炮制规范(2010年版)[S]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 2010: 504.

[15] 付婷婷, 尹兴斌, 蔡梦如, 等. 曲类中药的品种整理和标准现状分析[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(10): 2699-2712.

[16] 尹浩, 朱将雄, 赵海云, 等. 汉麻籽多肽靶向抑制胰脂肪酶/胆固醇酯酶的分子作用机制[J]. 食品科学, 2025, 46(2): 38-49.

[17] 管赫赫, 龙小波, 丁洋, 等. 驯食策略对鳃幼鱼存活、生长、肠道组织学与消化酶及肝脏转录组的影响[J]. 水生生物学报, 2024, 48(12): 1980-1992.

[18] 卢跃红, 王斌, 刘 恩, 等. 沙葱多酚提取物抗氧化活性及其对消化酶的抑制作用[J]. 中国食品学报, 2024, 24(8): 164-177.

[19] 刘晓燕, 崔 尧, 王海燕, 等. 参术健脾增食汤对小儿厌食症患者的临床疗效[J]. 中成药, 2024, 46(10): 3293-3297.

[20] 王占一, 朱淑琪, 黄亦心, 等. 纤维素酶辅助提取石榴籽饼粕多糖工艺优化及其动力学、热力学研究[J]. 中成药, 2024, 46(10): 3230-3235.

[21] 吴莉莉, 谌凤西, 肖 洋, 等. 不同煎煮方法对栀子豉汤制备过程中酶活性及主要成分的影响[J]. 中成药, 2024, 46(10): 3224-3229.

[22] 杨欣, 危 英, 周 英, 等. 黄褐毛忍冬提取物及其主要成分抗 RNA 病毒蛋白酶活性[J]. 中成药, 2024, 46(5): 1725-1729.

[23] 刘 平, 罗世英, 李梦佳, 等. 基于 HPLC 指纹图谱结合化学计量学评价“桑蒂”质量[J]. 中成药, 2025, 47(1): 14-21.