

基于指纹图谱和多组分定量分析的中药制剂洁泽洗液质量评价

巴宇姮¹, 汪秋兰¹, 万青¹, 王文清¹, 施春阳¹, 陈琢², 方建国^{1*} (1. 华中科技大学同济医学院附属同济医院药学部, 湖北武汉 430000; 2. 华中科技大学同济医学院附属同济医院中西医结合研究所, 湖北武汉 430000)

摘要: 目的 建立洁泽洗液指纹图谱及多指标成分含量测定的方法, 同时采用化学计量学方法对其进行质量评价。方法 采用 HPLC-DAD 指纹图谱, 经对照品比对指认出 10 个成分, 测定并分别计算其含量。采用相似度评价、聚类分析、主成分分析及正交偏最小二乘判别法对数据进行分析。结果 11 批样品指纹图谱相似度均 >0.95 , 线性关系良好 ($r \geq 0.9991$), 平均加样回收率为 89.70%~106.0%, RSD 为 1.52%~3.41%; 该方法的仪器精密度、稳定性、重复性均良好。10 个共有峰(没食子酸、原儿茶酸、新绿原酸、单咖啡酰酒石酸、5-*O*-阿魏酰奎宁酸、绿原酸、盐酸黄柏碱、木兰花碱、4-*O*-阿魏酰奎宁酸、盐酸小檗碱)含量测定结果分别为 40.103~55.841, 2.347~6.179, 8.336~23.810, 7.084~21.956, 33.098~53.833, 24.597~49.610, 21.587~31.188, 5.915~13.162, 115.381~189.702, 31.378~112.686 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。化学计量学结果显示 11 批样品可分为 4 类, 用以区分各批次样品的强特征峰为盐酸小檗碱、4-*O*-阿魏酰奎宁酸、绿原酸、新绿原酸和 5-*O*-阿魏酰奎宁酸。结论 所建方法准确可靠, 可用于洁泽洗液的质量控制和综合评价。

关键词: 洁泽洗液; 高效液相色谱法; 指纹图谱; 多指标成分测定; 化学计量学; 质量评价

中图分类号: R284.1 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2024)04-0452-08

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20230767

引用本文: 巴宇姮, 汪秋兰, 万青, 等. 基于指纹图谱和多组分定量分析的中药制剂洁泽洗液质量评价[J]. 中国现代应用药学, 2024, 41(4): 452-459.

Quality Evaluation of Traditional Chinese Medicine Jieze Lotion Based on Combination of Fingerprints and Multi-component Quantitative Analysis

BA Yuheng¹, WANG Qiulan¹, WAN Qing¹, WANG Wenqing¹, SHI Chunyang¹, CHEN Zhuo², FANG Jianguo^{1*} (1. Department of Pharmacy, Tongji Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430000, China; 2. Institute of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Tongji Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish fingerprints and multi-components determination of Jieze lotion, and use chemometrics methods for quality evaluation. **METHODS** The HPLC-DAD fingerprints was established and 10 components were recognized by comparison with references. Meanwhile, their contents were determined. The data were evaluated by the methods of chemometrics such as similarity evaluation, cluster analysis, principal component analysis, and orthogonal partial least squares-discriminant analysis. **RESULTS** The similarity of 11 batches of Jieze lotion were all >0.95 . The linearity was good ($r \geq 0.9991$) and the average recoveries were between 89.70% and 106.0% with the RSD of 1.52%~3.41%. Instrument precision, stability and reproducibility of the method were all great. The contents of the common ten components(gallic acid, protocatechuic acid, neochlorogenic acid, caftaric acid, 5-*O*-feruloylquinic acid, chlorogenic acid, phellodendrine chloride, magnoflorine, 4-*O*-feruloylquinic acid, berberine hydrochloride) were 40.103~55.841, 2.347~6.179, 8.336~23.810, 7.084~21.956, 33.098~53.833, 24.597~49.610, 21.587~31.188, 5.915~13.162, 115.381~189.702, 31.378~112.686 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectively. The results of chemometrics showed that the 11 batches of samples could be divided into 4 categories, and the strong characteristic peaks used to distinguish each batch of samples were berberine hydrochloride, 4-*O*-feruloylquinic acid, chlorogenic acid, neochlorogenic acid and 5-*O*-feruloylquinic acid. **CONCLUSION** The method is accurate and reliable, and it can be used for the quality control and comprehensive evaluation of Jieze lotion.

KEYWORDS: Jieze lotion; HPLC; fingerprints; multi-index determination; chemometrics; quality evaluation

洁泽洗液由黄柏、败酱草、蒲公英、牡丹皮等药味组成, 为华中科技大学同济医学院附属同济医院在研“1.1”类新药, 具有清热解毒、杀虫

灭虱、燥湿止带、收敛生肌的功效; 主治各种阴道炎、宫颈炎所致的阴道灼热、疼痛, 带下量多, 外阴瘙痒等湿热带下证。其临床特点是对多

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81874483)

作者简介: 巴宇姮, 女, 硕士生 E-mail: 1249947917@qq.com

*通信作者: 方建国, 男, 博士, 主任医师 E-mail: fjjg3560@sina.com

种女性下生殖道单一感染或混合感染性疾病均有效,可菌毒并治,几乎无刺激性。

2020年,国家药品监督管理局发布了《关于促进中药传承创新发展的实施意见》,提出要构建中医药理论、人用经验和临床试验“三结合”模式,探索引入新工具、新方法、新技术、新标准用于中药疗效评价,加强从中药源头到生产全过程的质量控制,促进中药临床研究质量整体提升,鼓励医疗机构制剂向中药新药转化,促进中药创新发展^[1]。中药指纹图谱作为一种综合的、量化的色谱鉴定手段,可以在整体上评估原料药材、中间品和成品质量均一性和稳定性^[2-3]。化学模式识别技术则能够将指纹图谱所含有的信息进行处理表达,强调数据之间的差异性,避免主观因素的干扰^[4]。而现有的洁泽洗液质量标准则仅对单一成分进行含量测定^[5],不能评估制剂整体质量,或仅在建立HPLC指纹图谱的基础上,对同一批次药效无关成分定量分析^[6],不能评价制剂之间差异性。因此,本研究将指纹图谱、多指标成分含量测定、化学计量学分析三者结合,在整体评价的基础上体现出差异性成分的信息,完善洁泽洗液质量标准,促进洁泽洗液由医疗机构制剂向创新药的成功转化。

1 仪器与材料

Waters e2695型HPLC仪(美国Waters公司),配备PDA检测器;AUW 220D型双量程分析天平(日本Shimadzu公司)。

对照品:没食子酸(批号:110831-201906;含量:91.5%)、原儿茶酸(批号:110809-201906;含量:97.7%)、绿原酸(批号:110753-202018;含量:96.1%)、盐酸黄柏碱(批号:111895-201202;含量:93.9%)、盐酸小檗碱(批号:110713-200911;含量:86.8%)均购自中国食品药品检定研究院;单咖啡酰酒石酸(批号:JOT-10951;含量:98.96%)、木兰花碱(批号:JOT-10603;含量:99.01%)均购自深圳前晨生物技术有限公司;4-*O*-阿魏酰奎宁酸(批号:DST211110-646;含量:98%)、5-*O*-阿魏酰奎宁酸(批号:DST220420-057;含量:98%)均购自成都乐美天医药科技有限公司;新绿原酸(成都格利普生物科技有限公司,批号:20123006;含量:99.62%)。11批洁泽洗液(由华中科技大学同济医学院附属同济医院提

供,规格:200 mL;批号:20210930, 20211120, 20220108, 20220326, 20220514, 20220610, 20220625, 20220720, 20220917, 20221119, 20230104);甲醇、乙腈均为色谱纯,其他试剂均为分析纯,水为新制多效纯化水。

药材信息:经华中科技大学同济医学院附属同济医院魏世超教授鉴定,黄柏为芸香科植物黄皮树 *Phellodendron chinense* Schneid.的干燥树皮、蒲公英为菊科植物蒲公英 *Taraxacum mongolicum* Hand.-Mazz.的干燥全草、牡丹皮为毛茛科植物牡丹 *Paeonia suffruticosa* Andr.的干燥根皮,各药材均符合中国药典2020年版一部相关项下的性状规定。败酱草为败酱科植物黄花败酱 *Patrinia scabiosaefolia* Fisch.的干燥全草,符合中国药典1977年版一部败酱草品种项下有关规定。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Xselect® CSHTM C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm)色谱柱;流动相:乙腈(A)-0.1%三氟乙酸溶液(B),梯度洗脱(0~30 min, 5%→14%A; 30~39 min, 14%A; 39~47 min, 14%→19%A; 47~68 min, 19%→26%A; 68~78 min, 26%→60%A; 78~82 min, 60%A; 82~83 min, 60%→5%A; 83~95 min, 5%A);流速:0.8 mL·min⁻¹;检测波长:218 nm;柱温:30℃;进样量:10 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液的配制 取没食子酸、原儿茶酸、新绿原酸、单咖啡酰酒石酸、5-*O*-阿魏酰奎宁酸、绿原酸、盐酸黄柏碱、木兰花碱、4-*O*-阿魏酰奎宁酸、盐酸小檗碱对照品适量,精密称定,以70%甲醇为溶剂,配成质量浓度分别为211.37, 31.71, 141.06, 104.30, 194.04, 222.95, 159.40, 31.68, 719.32, 323.76 μg·mL⁻¹的混合对照品储备液。精密量取混合对照品储备液2 mL,置10 mL量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,作为混合对照品溶液,备用。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密量取样品(批号:20220917)2 mL,置10 mL量瓶中,加水至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.3 指纹图谱及含量测定方法学考察

指纹图谱和多指标成分含量测定方法学研究中供试品溶液制备方法、色谱条件同“2.1”及

“2.2”项下。

2.3.1 系统适用性及专属性试验 精密吸取“2.2”项下混合对照品溶液和供试品溶液各10 μL 进样测定。结果显示,在混合对照品溶液色谱图中,各待测成分与相邻峰分离度均>1.5,理论板数均>7500,各峰峰纯度良好,基线相对平稳。供试品溶液色谱图中,各待测峰的保留时间与对照品溶液色谱图中对应色谱峰的保留时间一致,通过与对照品比对指认出2号峰为没食子酸,3号峰为原儿茶酸,4号峰为新绿原酸,8~11号峰分别为单咖啡酰酒石酸,5-*O*-阿魏酰奎宁酸,绿原酸,盐酸黄柏碱,13号峰为木兰花碱,14号峰为4-*O*-阿魏酰奎宁酸,17号峰为盐酸小檗碱,见图1。

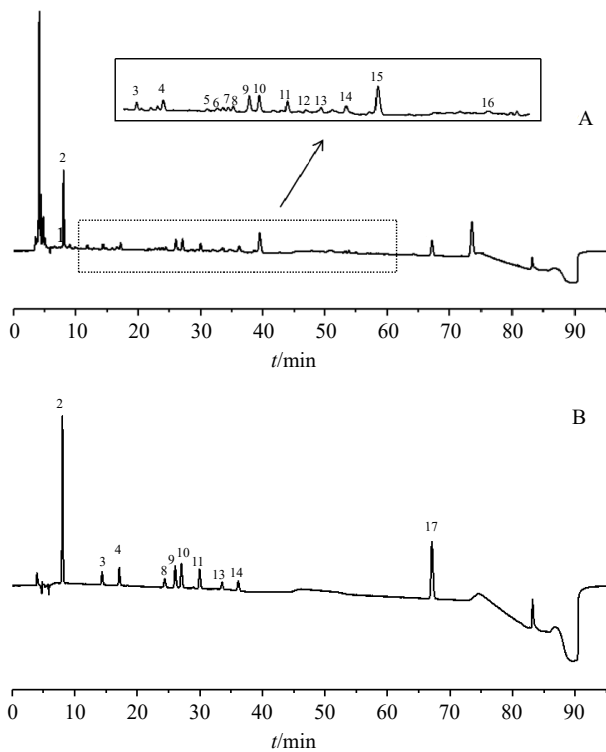


图1 洁泽洗液高效液相色谱图
A—供试品溶液; B—混合对照品溶液; 2—没食子酸; 3—原儿茶酸; 4—新绿原酸; 8—单咖啡酰酒石酸; 9—5-*O*-阿魏酰奎宁酸; 10—绿原酸; 11—盐酸黄柏碱; 13—木兰花碱; 14—4-*O*-阿魏酰奎宁酸; 17—盐酸小檗碱。

Fig. 1 HPLC chromatographic diagram of Jieze lotion
A—sample solution; B—mixed reference substance solution; 2—gallic acid; 3—protocatechuic acid; 4—neochlorogenic acid; 8—caftaric acid; 9—5-*O*-feruloylquinic acid; 10—chlorogenic acid; 11—phellodendrine chloride; 13—magnoflorine; 14—4-*O*-feruloylquinic acid; 17—berberine hydrochloride.

2.3.2 线性关系考察 分别精密量取“2.2.1”项下混合对照品储备液0.1, 0.2, 0.5, 1, 1.5, 2,

2.5 mL 置5 mL 量瓶中,制得一系列不同浓度的混合对照品溶液。精密吸取上述系列浓度混合对照品溶液和混合对照品储备液各10 μL 进样测定。

以各组分色谱峰峰面积(*Y*)为纵坐标,浓度(*X*, μg·mL⁻¹)为横坐标,绘制标准曲线,计算回归方程及相关系数。结果表明10个成分在其试验浓度范围内呈良好的线性关系,结果见表1。

表1 线性关系考察结果(*n*=8)
Tab. 1 Results of linear range investigation(*n*=8)

成分	回归方程	<i>r</i>	线性范围/μg·mL ⁻¹
没食子酸	<i>Y</i> =107 576 <i>X</i> +97 543	0.999 6	4.227~211.4
原儿茶酸	<i>Y</i> =86704 <i>X</i> —17 314	0.999 3	0.634 3~31.71
新绿原酸	<i>Y</i> =27 624 <i>X</i> —25 639	0.999 1	2.821~141.1
单咖啡酰酒石酸	<i>Y</i> =21 581 <i>X</i> —22 087	0.999 2	2.086~104.3
5- <i>O</i> -阿魏酰奎宁酸	<i>Y</i> =26 828 <i>X</i> —24 247	0.999 9	3.881~194.0
绿原酸	<i>Y</i> =27 195 <i>X</i> —40 713	0.999 3	4.459~223.0
盐酸黄柏碱	<i>Y</i> =29 761 <i>X</i> —17 632	0.999 3	3.188~159.4
木兰花碱	<i>Y</i> =55 924 <i>X</i> —14 518	0.999 1	0.633 7~31.68
4- <i>O</i> -阿魏酰奎宁酸	<i>Y</i> =3 910.9 <i>X</i> —35 557	0.999 4	14.39~719.3
盐酸小檗碱	<i>Y</i> =55 614 <i>X</i> —133 628	0.999 3	6.475~323.8

2.3.3 仪器精密度试验 精密吸取“2.2.1”项下混合对照品溶液10 μL,连续进样5次。测得10个共有峰峰面积的RSD为2.21%~3.85%,结果符合中国药典2020年版四部项下规定(含量>10 μg·g⁻¹时,RSD需≤4%)。因17号盐酸小檗碱色谱峰峰面积较大,峰形较好,保留时间较稳定,故将其作为参照峰(*S*),计算得到各共有峰相对保留时间RSD均≤0.10%,表明仪器精密度良好。

2.3.4 稳定性试验 取同一批样品(批号:20220917),按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,分别在0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24 h 进样测定。测得10个共有峰峰面积的RSD为0.35%~2.40%,结果符合RSD需≤4%的规定。以盐酸小檗碱为参照峰,计算得到各共有峰相对保留时间RSD均≤0.19%,表明供试品溶液在24 h 内稳定性良好。

2.3.5 重复性试验 取同一批样品(批号:20220917),制备6份供试品溶液,进样测定,用外标法计算。结果10个共有峰含量的平均值分别为0.218, 0.033, 0.147, 0.101, 0.166, 0.240, 0.163, 0.026, 0.843, 0.342 mg·g⁻¹,RSD为0.60%~3.13%,结果符合RSD需≤4%的规定。以盐酸小檗碱为参照峰,计算得到各共有峰相对保

留时间 RSD 均≤0.20%，表明方法重复性良好。

2.3.6 加样回收率试验 精密量取同一批样品 1 mL(批号：20220917)，置 10 mL 量瓶中，共 6 份，分别加入“2.2.1”项下混合对照品溶液 1 mL，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，进样测定并计算，结果符合中国药典 2020 年版四部项下规定(含量>10 μg·g⁻¹ 时，RSD 需≤4%，回收

表 2 加样回收率试验结果 (n=6)

Tab. 2 Recovery results(n=6)

成分	供试品含 量/mg	加入量/mg	测得量/ mg	回收率/%	平均回收 率/%	RSD/%
没食子酸	0.218 4	0.211 4	0.438 1	103.9	104.9	2.52
	0.218 4	0.211 4	0.440 3	105.0		
	0.218 4	0.211 4	0.441 9	105.7		
	0.218 4	0.211 4	0.446 4	107.9		
	0.218 4	0.211 4	0.430 5	100.3		
	0.218 4	0.211 4	0.444 2	106.8		
原儿茶酸	0.032 9	0.031 7	0.060 8	88.01	89.70	3.41
	0.032 9	0.031 7	0.061 6	90.54		
	0.032 9	0.031 7	0.062 9	94.64		
	0.032 9	0.031 7	0.061 8	91.17		
	0.032 9	0.031 7	0.060 2	86.12		
	0.032 9	0.031 7	0.060 7	87.70		
新绿原酸	0.146 7	0.141 1	0.276 6	92.06	92.32	1.73
	0.146 7	0.141 1	0.276 9	92.27		
	0.146 7	0.141 1	0.281 2	95.32		
	0.146 7	0.141 1	0.276 7	92.13		
	0.146 7	0.141 1	0.274 5	90.57		
	0.146 7	0.141 1	0.275 9	91.57		
单咖啡酰 酒石酸	0.101 5	0.104 3	0.197 4	91.95	92.39	1.62
	0.101 5	0.104 3	0.197 3	91.85		
	0.101 5	0.104 3	0.198 8	93.29		
	0.101 5	0.104 3	0.197 5	92.04		
	0.101 5	0.104 3	0.195 8	90.41		
	0.101 5	0.104 3	0.200 4	94.82		
5-O-阿魏 酰奎宁 酸	0.165 8	0.194 0	0.369 9	105.2	106.0	1.52
	0.165 8	0.194 0	0.372 5	106.5		
	0.165 8	0.194 0	0.375 2	107.9		
	0.165 8	0.194 0	0.371 0	105.8		
	0.165 8	0.194 0	0.366 3	103.4		
	0.165 8	0.194 0	0.373 6	107.1		
绿原酸	0.239 8	0.223 0	0.459 1	98.34	101.6	2.68
	0.239 8	0.223 0	0.466 4	101.6		
	0.239 8	0.223 0	0.467 6	102.2		
	0.239 8	0.223 0	0.475 8	105.8		
	0.239 8	0.223 0	0.460 6	99.01		
	0.239 8	0.223 0	0.469 1	102.8		

续表 2

成分	供试品含 量/mg	加入量/mg	测得量/ mg	回收率/%	平均回收 率/%	RSD/%
盐酸黄 柏碱	0.163 5	0.159 0	0.312 9	93.96	93.35	2.01
	0.163 5	0.159 0	0.311 3	92.96		
	0.163 5	0.159 0	0.315 6	95.66		
	0.163 5	0.159 0	0.310 4	92.39		
	0.163 5	0.159 0	0.307 2	90.38		
	0.163 5	0.159 0	0.314 2	94.78		
木兰花碱	0.026 3	0.032 0	0.055 1	90.00	95.83	3.28
	0.026 3	0.032 0	0.056 6	94.69		
	0.026 3	0.032 0	0.057 6	97.81		
	0.026 3	0.032 0	0.057 8	98.44		
	0.026 3	0.032 0	0.057 2	96.56		
	0.026 3	0.032 0	0.057 5	97.50		
4-O-阿魏酰 奎宁酸	0.843 1	0.719 0	1.544 2	97.51	94.92	1.54
	0.843 1	0.719 0	1.522 3	94.46		
	0.843 1	0.719 0	1.519 7	94.10		
	0.843 1	0.719 0	1.527 7	95.22		
	0.843 1	0.719 0	1.510 8	92.87		
	0.843 1	0.719 0	1.528 8	95.37		
盐酸小 檗碱	0.342 2	0.324 0	0.634 5	90.22	91.54	2.49
	0.342 2	0.324 0	0.635 6	90.56		
	0.342 2	0.324 0	0.638 7	91.51		
	0.342 2	0.324 0	0.653 5	96.08		
	0.342 2	0.324 0	0.634 3	90.15		
	0.342 2	0.324 0	0.636 2	90.74		

率需在 85%~110% 内)，表明加样回收率较好，结果见表 2。

2.4 多指标成分含量测定

取 11 批样品，分别平行制备 3 份供试品溶液，精密吸取供试品溶液和“2.2.1”项下混合对照品溶液各 10 μL，进样测定，计算 10 个共有峰的含量，结果见表 3。

2.5 指纹图谱的建立及相似度评价

将 11 批样品的指纹图谱以 cdf 格式导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012.A 版)，以 S1 指纹图谱为参照图谱，采用中位数法进行多点校正，时间窗宽度为 0.5 min，共标记 17 个共有峰。通过与对照品比对识别出的特征峰进行 Mark 峰匹配，生成对照指纹图谱 (R)。以对照指纹图谱 R 为参照，计算 11 批样品指纹图谱的相似度，测得相似度分别为 0.957, 0.995, 0.999, 0.999, 1.000, 0.997, 0.999, 0.995, 0.992, 0.993, 0.986, 均>0.95，表明 11 批样品之间的相似度较高，见图 2。

表 3 含量测定结果 (n=3)

Tab. 3 Determination results(n=3)

编号	没食子酸	原儿茶酸	新绿原酸	单咖啡酰酒石酸	5-O-阿魏酰奎宁酸	绿原酸	盐酸黄柏碱	木兰花碱	4-O-阿魏酰奎宁酸	盐酸小檗碱
S1	55.841	5.469	11.643	7.084	47.869	35.172	31.188	13.162	189.702	112.686
S2	52.432	5.724	18.646	12.227	53.833	42.847	30.298	11.015	168.896	74.177
S3	53.611	5.744	19.925	12.878	53.749	43.966	29.988	10.677	162.154	65.313
S4	51.660	5.970	20.419	13.356	53.240	44.778	29.940	10.105	160.248	63.120
S5	52.394	5.671	20.974	14.024	52.896	45.164	29.671	9.855	153.236	58.497
S6	51.351	5.708	22.046	14.708	53.023	45.747	28.957	9.704	152.589	48.925
S7	52.624	6.009	22.798	15.597	53.744	47.363	29.385	9.683	153.207	52.585
S8	52.860	6.000	23.776	15.792	53.295	48.321	29.375	9.441	150.863	46.579
S9	51.783	6.179	8.336	9.965	52.076	49.610	28.741	9.165	140.208	42.924
S10	52.544	6.129	23.810	16.536	53.374	49.004	29.658	9.262	148.326	43.994
S11	40.103	2.347	10.113	21.956	33.098	24.597	21.587	5.915	115.381	31.378

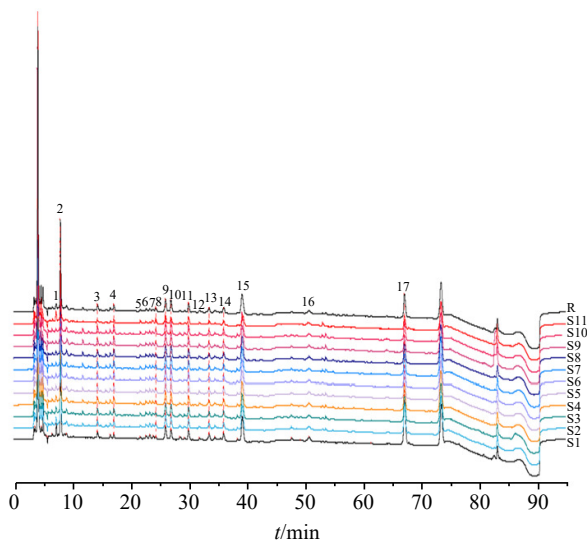


图 2 11 批洁泽洗液 (S1~S11) 指纹图谱及对照指纹图谱 (R)
A-供试品溶液; B-混合对照品溶液; 2-没食子酸; 3-原儿茶酸;
4-新绿原酸; 8-单咖啡酰酒石酸; 9-5-O-阿魏酰奎宁酸; 10-绿原酸;
11-盐酸黄柏碱; 13-木兰花碱; 14-4-O-阿魏酰奎宁酸; 17-盐酸小檗碱。

Fig. 2 Fingerprints for Jieze lotion(S1-S11) and reference(R)
A-sample solution; B-mixed reference substance solution; 2-gallic acid;
3-protocatechuic acid; 4-neochlorogenic acid; 8-caftaric acid; 9-5-O-feruloylquinic acid; 10-chlorogenic acid; 11-phellodendrine chloride;
13-magnoflorine; 14-4-O-feruloylquinic acid; 17-berberine hydrochloride.

2.6 化学模式识别分析

2.6.1 聚类分析 (cluster analysis, CA) 运用 SPSS 27.0 软件, 以含量测定结果为变量, 采用组间联接法, 平方 Euclidean 距离为测度进行 HCA。当类间距离为 3 时, 可将 11 批样品分为 4 类, 第一类为 S2~S5, 第二类为 S6~S10, 第三类为 S1, 第四类为 S11, 见图 3。

2.6.2 主成分分析 (principal component analysis, PCA) 采用 SPSS 27.0 软件, 以特征值及累计方

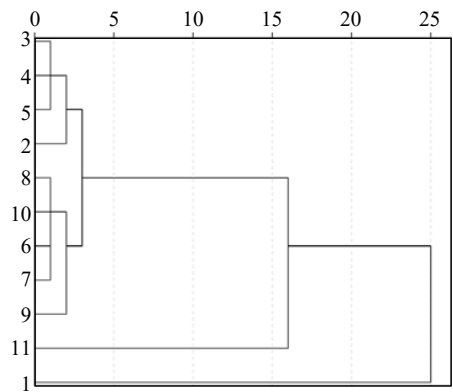


图 3 HCA 树状图

Fig. 3 Cluster of HCA

差贡献率为依据, 对 11 批样品进行 PCA。以特征值 >1 为主成分, 提取出 2 个主成分, 其累积方差贡献率为 91.991%, 结果见表 4。由成分矩阵可知, 主成分一为信息量最多的成分, 其信息来源于峰 2, 3, 9, 11, 13, 14 和 17, 主成分二的信息来源于峰 4, 8 和 10, 见表 5。根据以上结果, 采用主成分评分对 11 批样品进行综合评价。根据公式 $Y_1=0.3796X_1+0.3449X_2+0.1450X_3-0.3100X_4+0.3338X_5+0.2546X_6+0.3830X_7+0.3488X_8+0.3361X_9+0.2500X_{10}$; $Y_2=0.0173X_1+0.2511X_2+0.4484X_3+0.2934X_4+0.3043X_5+0.4478X_6+0.0352X_7-0.2582X_8-0.2678X_9-0.4657X_{10}$ 计算 2 个主成分 (Y_1 , Y_2) 的得分。再根据公式 $Y=0.6762Y_1+0.2437Y_2$ 计算综合得分 (Y) 并排序, 结果见表 6。利用 SIMCA 14.1 软件绘制 PCA 得分图, 结果显示 11 批样品分类情况与 CA 结果一致, 结果见图 4。

2.6.3 正交偏最小二乘判别分析 (orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA) 以

表 4 特征值和方差贡献率

Tab. 4 Eigen values and the variance contribution rates

成分	初始特征值			提取载荷平方和		
	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	6.762	67.618	67.618	6.762	67.618	67.618
2	2.437	24.373	67.618	2.437	24.373	67.618
3	0.732	7.321	99.313	/	/	/
4	0.041	0.409	99.722	/	/	/
5	0.014	0.136	99.857	/	/	/
6	0.006	0.063	99.920	/	/	/
7	0.005	0.053	99.974	/	/	/
8	0.002	0.017	99.990	/	/	/
9	0.001	0.007	99.997	/	/	/
10	0.000	0.003	100.000	/	/	/

表 5 主成分载荷矩阵

Tab. 5 Component load matrix of principals

峰号	成分	
	主成分1	主成分2
2	0.987	0.027
3	0.897	0.392
4	0.377	0.700
8	-0.806	0.458
9	0.868	0.475
10	0.662	0.699
11	0.996	0.055
13	0.907	-0.403
14	0.874	-0.418
17	0.650	-0.727

表 6 主成分得分、综合得分和排名

Tab. 6 Component scores, comprehensive scores and ranking of principals

编号	Y1	Y2	Y	排名
S1	2.623	-3.880	0.828	1
S2	1.332	-0.680	0.735	2
S3	1.123	-0.119	0.730	3
S4	0.800	0.186	0.586	7
S5	0.455	0.457	0.419	8
S6	0.107	0.869	0.284	9
S7	0.479	1.128	0.599	4
S8	0.354	1.455	0.594	6
S9	-0.025	0.103	0.009	10
S10	0.263	1.712	0.595	5
S11	-7.512	-1.231	-5.380	11

含量测定结果为变量，在 HCA 分组的基础上，通过 SIMCA 14.1 软件建立有监督的 OPLS-DA 模

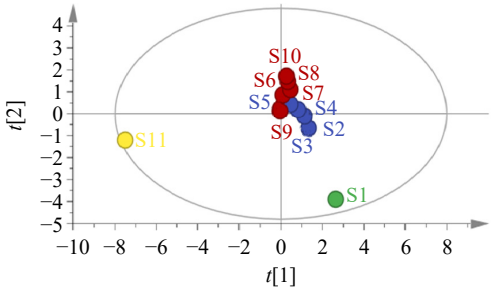


图 4 PCA 得分图

Fig. 4 PCA score plot

型，参数 $Q^2=0.705$ ， $R^2Y = 0.927$ ， $R^2X=0.999$ 均 >0.5 ，表明建立的模型可行。结果显示，11 批样品分类情况与 CA，PCA 一致，结果见图 5，盐酸小檗碱、4-O-阿魏酰奎宁酸、绿原酸、新绿原酸和 5-O-阿魏酰奎宁酸是区分洁泽洗液的差异性质量标志物 ($VIP>1$ ， $P<0.05$)，对全方质量研究的影响较大，需重点关注其含量变化，结果见图 6。

3 讨论

3.1 定量分析指标的选择

黄柏为君药，主要药效成分有盐酸小檗碱、盐酸黄柏碱、4-O-阿魏酰奎宁酸、5-O-阿魏酰奎宁酸和木兰花碱^[7]，这些成分对表皮葡萄球菌、白色念珠菌、大肠杆菌等均有明显抑制作用^[8-11]；盐酸黄柏碱为黄柏所特有，目前在黄连及小檗属、唐松草属等多种植物中尚未被发现，可作为区分黄柏的专属性成分^[12-13]；蒲公英、败酱草、牡丹皮主要药效组成成分为没食子酸、原儿茶酸、绿原酸、新绿原酸和单咖啡酰酒石酸^[14-16]，能够对白色念珠菌、人乳头瘤病毒 (HPV) 等发挥抗菌抗病毒作用^[17-19]。这 10 个成分所发挥的药效作用与外阴

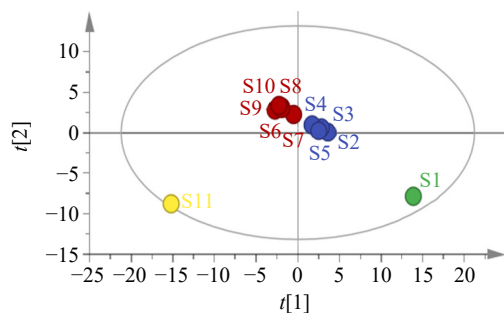


图5 OPLS-DA 得分图
Fig. 5 OPLS-DA score plot

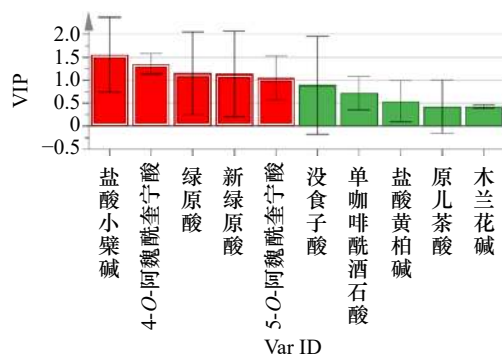


图6 变量投影重要度柱状图
Fig. 6 VIP histogram

阴道假丝酵母菌病、需氧性阴道炎、生殖道 HPV 感染等洁泽洗液适应证有较强关联性，能够反映洁泽洗液内在质量，因此作为定量分析指标。

3.2 色谱条件选择

采用 PDA 检测器对洁泽洗液供试品溶液进行全波长扫描，提取 17 个共有峰最大值图，各峰在 218, 230, 284 nm 波长处均有吸收，因盐酸黄柏碱在 230 nm 和 284 nm 处吸收能力较弱，检测灵敏度低，最终以盐酸黄柏碱的最大吸收峰在 210 nm 附近，综合考虑，选择 218 nm 作为检测波长。试验考察了甲醇-0.1% 磷酸溶液、甲醇-0.1% 甲酸溶液、乙腈-0.1% 甲酸溶液、乙腈-0.1% 三氟乙酸溶液 4 种不同溶剂系统对洁泽洗液中主要成分的洗脱和分离效果，最终优选出“2.1”项下色谱条件。

3.3 化学计量学结果分析

HCA 图、PCA 得分图、OPLS-DA 得分图均显示，S2~S5 聚为一类，S6~S10 聚为一类，S1 与 S11 各为一类，而 11 批洁泽洗液样品的相似度均 >0.95，表明即使指纹图谱相似度较好的情况下，投料批次不同，所得制剂的质量也存在差异。含量测定结果显示，S11 中 10 个成分含量相对其他

批次均较低，通过分别计算这 10 个成分与其对应成分总含量平均值的偏差率得知，原儿茶酸和单咖啡酰酒石酸偏差最大，可能与生产工艺或蒲公英药材质量有关；S1 中 4-*O*-阿魏酰奎宁酸、木兰花碱、盐酸小檗碱含量较高，可能受黄柏药材来源等因素影响。区别 S2~S5 与 S6~S10 的主要成分为盐酸小檗碱、4-*O*-阿魏酰奎宁酸和绿原酸，可能与败酱草、蒲公英、黄柏药材采收季节或储存条件等有关。进一步通过主成分综合得分排名得知 S1 名次为 1，S11 名次为 11，S2~S5 平均主成分综合得分比 S6~S10 高，与含量测定结果一致。由 OPLS-DA 得出盐酸小檗碱、4-*O*-阿魏酰奎宁酸、绿原酸、新绿原酸和 5-*O*-阿魏酰奎宁酸是区分洁泽洗液的差异性质量标志物，这些成分主要来自黄柏、败酱草和蒲公英。综上可知药材对制剂整体质量影响能力黄柏>蒲公英>败酱草>牡丹皮，这一结果为药材投料情况监测提供参考，以确保样品质量和临床疗效的稳定性。

4 小结

综上所述，本研究建立了洁泽洗液 HPLC-DAD 指纹图谱，同时测定洁泽洗液中 10 个成分含量，并结合化学计量学分析对其进行质量综合评价。该方法准确，稳定可靠，重复性高，可用于中药制剂洁泽洗液的质量控制，有利于中药采收、加工等多环节复杂影响因素的体现，实现从中药源头到制剂成型的全过程质量把关，保证制剂质量的均一性和稳定性，提升制剂的品质与疗效^[20-22]。

REFERENCES

- [1] 国家药品监督管理局.《国家药监局关于促进中药传承创新发展的实施意见》[EB/OL]. (2020-12-21) [2021-03-16]. <https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/fgwj/gzwj/gzwjyp/20201225163906151.html>
- [2] HE W F, LI S M. Research progress of chromatographic fingerprint of traditional Chinese medicine[J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2003, 14(4): 238-240.
- [3] MA Y B, TIAN Y R, TIAN W, et al. Screening and determination of quality markers of Folium Photiniae based on HPLC fingerprint and chemometrics[J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2023, 32(9): 961-968.
- [4] ZHANG J N, XU A L, LI Y X, et al. Study on UPLC fingerprints, chemical pattern recognition and content determination of Citri Grandis Exocarpium from different origins[J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol(中药新药与临床药理), 2023, 34(1): 103-109.
- [5] MA Y G, XIE W, FANG J G, et al. Determination of berberine

- hydrochloride in Jieze lotion by HPLC[J]. Her Med(医药导报), 2011, 30(11): 1484-1486.
- [6] DUAN Q N, LIU T, HUANG C, et al. The Chinese herbal prescription JieZe-I inhibits membrane fusion and the toll-like receptor signaling pathway in a genital herpes mouse model[J]. Front Pharmacol, 2021(12): 707695.
- [7] WANG M. Comparative study on chemical constituents and biological activities of Cortex Phellodendri and Rhizoma Coptidis[D]. Beijing: Peking Union Medical College, 2009.
- [8] KIM J, BAO T H Q, SHIN Y K, et al. Antifungal activity of magnoflorine against *Candida* strains[J]. World J Microbiol Biotechnol, 2018, 34(11): 167.
- [9] LIN Y, SI S Y, JIANG J D. Antibacterial activity of berberine[J]. Acta Pharm Sin(药学学报), 2018, 53(2): 163-168.
- [10] YASIR M, SULTANA B, NIGAM P S, et al. Antioxidant and genoprotective activity of selected Cucurbitaceae seed extracts and LC-ESI MS/MS identification of phenolic components[J]. Food Chem, 2016(199): 307-313.
- [11] YU H, DU J L. Research progress on pharmacological effect and mechanism action of berberine[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2020, 37(4): 501-507.
- [12] ZHOU S, LIU Y G, ZHANG G X, et al. Research progress on chemical constituents and quality control of Cortex Phellodendri[J]. China Pharm(中国药房), 2012, 23(39): 3740-3742.
- [13] HUANG L M, WANG Y T, YAN W L, et al. Determination of phellodendrine hydrochloride in Zhizi Jinhua pills by HPLC[J]. J Chin Med Mater(中药材), 2011, 34(8): 1300-1302.
- [14] GONZÁLEZ-CASTEJÓN M, VISIOLI F, RODRIGUEZ-CASADO A. Diverse biological activities of dandelion[J]. Nutr Rev, 2012, 70(9): 534-547.
- [15] QUAN J Y, LIU J F, YU L Z, et al. Research progress on chemical constituents, anti-inflammatory and anti-tumor effects of *Patrinia scabra*[J]. J Guangxi Univ Chin Med(广西中医药大学学报), 2021, 24(3): 99-103.
- [16] ZHANG S R, ZHAO H S, TONG M R, et al. Chemical constituents, pharmacological effects of Moutan Cortex and predictive analysis on its quality marker(Q-Marker)[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2022, 53(16): 5215-5224.
- [17] NIE W J, XU S S, ZHANG Y M. Advances in the study of effective components and pharmacological action of dandelion[J]. J Liaoning Univ Tradit Chin Med(辽宁中医药大学学报), 2020, 22(7): 140-145.
- [18] XI L S, MU T H, SUN H N. Progresses in the research of chlorogenic acids[J]. Acta Agric Nucleatae Sin(核农学报), 2014, 28(2): 292-301.
- [19] TANG X L, LIU J X, LI L. Pharmacological effects of organic acids in Chinese herbs and its application in cardiovascular diseases[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2012, 18(5): 243-246.
- [20] FENG Y, TIAN W, TIAN Y R, et al. Multi-index determination and characteristic spectrum of reference substances of Danggui Jianzhong Decoction[J]. Chin Pharm J(中国药理学杂志), 2022, 57(10): 799-807.
- [21] ZHANG H, WANG J N, CHEN Y, et al. Application of chemometrics in preparation technology and quality evaluation of traditional Chinese medicine formula granules[J]. J Chin Med Mater(中药材), 2019, 42(2): 474-478.
- [22] ZHANG H, CHEN Y, WANG J N, et al. Application of fingerprint technology in quality evaluation and process control of traditional Chinese medicine formula granules[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2018, 43(19): 3822-3827.

收稿日期: 2023-03-23
(本文责编: 曹粤锋)