



基于HPLC指纹图谱和化学计量学的舒痔洗液质量评价及9种成分含量测定

叶紫薇, 胡淼也, 顾卫, 王巧芝, 陈国珍, 左婷

Quality evaluation and 9 components determination of Shuzhi Lotion based on HPLC fingerprint and chemometrics

YE Ziwei, HU Miaoye, GU Wei, WANG Qiaozhi, CHEN Guozhen, ZUO Ting

在线阅读 View online: <http://yxsj.smmu.edu.cn/cn/article/doi/10.12206/j.issn.2097-2024.202512051>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

应用HPLC指纹图谱结合化学计量学对姜桂颗粒质量的评价研究

Quality evaluation of Jianggui granules by HPLC fingerprint combined with chemometrics

药学实践与服务. 2025, 43(10): 509-513 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202312040

大黄的HPLC指纹图谱及禁用农药的残留研究

HPLC fingerprint of Radix Rhubarb and forbidden pesticide residues

药学实践与服务. 2024, 42(7): 297-304, 314 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202310057

HPLC-MS/MS测定当归六黄汤中4种不同成分的含量

Determination of four different components in Danggui Liu Huang decoction by HPLC-MS/MS

药学实践与服务. 2024, 42(6): 248-252, 266 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202305007

麝香接骨胶囊的HPLC特征图谱的研究及7种成分含量测定

Study on the characteristic chromatogram of Shexiang Jiegu Capsule and determination of seven components by HPLC

药学实践与服务. 2025, 43(8): 395-399 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202307059

核磁共振磷谱法测定磷酸氢钙咀嚼片中药物含量

Determination of phosphorus content in calcium hydrogen phosphate tablets by ^{31}P -qNMR

药学实践与服务. 2024, 42(9): 399-401, 406 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202404063

毛鸡骨草药材的质量评价

Quality evaluation of *Abri Mollis* Herba

药学实践与服务. 2025, 43(5): 251-258 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202410021



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

· 论著 ·

基于 HPLC 指纹图谱和化学计量学的舒痔洗液质量评价及 9 种成分含量测定

叶紫薇, 胡森也, 顾卫, 王巧芝, 陈国珍, 左婷 [广州中医药大学惠州医院(惠州市中医医院), 广东惠州 516000]

[摘要] 目的 控制舒痔洗液整体质量, 提升质量标准。方法 采用 HPLC 法建立 16 批样品的色谱图并使用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)》对其进行相似度评价。使用 SPSS 27.0 软件和 SIMCA 14.1 软件对 16 批色谱图峰面积进行化学模式分析, 筛选指标性成分, 并采用 HPLC 法测定样品中指标性成分的含量, 对 16 批舒痔洗液进行质量差异性评价。结果 16 批样品与对照图谱的相似度为 0.967~0.994; 标定 25 个共有峰, 指出 9 个色谱峰。聚类分析与主成分分析均可将 16 批样品分为 2 类; 主成分分析得到 5 个主成分, 累计方差贡献率为 89.70%; 正交偏最小二乘-判别分析筛选出 5 个指标性成分, 分别为菊苣酸、咖啡酸、马钱苷酸、槐果碱、黄柏碱。建立舒痔洗液 9 个指标性成分含量的测定方法, 精密性、重复性、稳定性试验的 RSD 值均小于 3%, 加样回收率在 96.44%~104.39% 范围内, RSD 值均小于 2.96%。16 批样品中槐果碱、马钱苷酸、绿原酸、龙胆苦苷、咖啡酸、黄柏碱、虎杖苷、菊苣酸、大黄素-8-O-葡萄糖的含量分别为 316.59~546.00、976.59~1407.60、355.51~578.20、1545.37~1943.61、93.93~183.99、76.81~151.27、254.43~529.86、301.61~701.20、195.85~338.85 μg/ml。结论 该研究中所建方法结果准确, 稳定可靠, 可全面有效评价舒痔洗液质量。

[关键词] 舒痔洗液; 指纹图谱; 含量测定; 菊苣酸; 虎杖苷; 槐果碱

[文章编号] 2097-2024(2026)00-0001-09

[DOI] 10.12206/j.issn.2097-2024.202512051

Quality evaluation and 9 components determination of Shuzhi Lotion based on HPLC fingerprint and chemometrics

YE Ziwei, HU Miaoye, GU Wei, WANG Qiaozhi, CHEN Guozhen, ZUO Ting [Huizhou Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine (Huizhou Hospital of Traditional Chinese Medicine), Huizhou 516000, China]

[Abstract] **Objective** To control the overall quality and improve the quality standard of Shuzhi Lotion. **Methods** The chromatograms of 16 batches of samples were established by HPLC. The similarity evaluation of HPLC fingerprints for 16 batches of Shuzhi Lotion was performed by the Similarity Evaluation System of Chromatographic Fingerprint of Traditional Chinese Medicine (2012 edition). SPSS27.0 and SIMCA14.1 data analysis software were used to perform the chemical pattern recognition to screen the key components. The content of key components was determined by HPLC to evaluate the quality difference of different batches of Shuzhi Lotion. **Results** The similarity between 16 batches of samples and the control map ranged from 0.967-0.994. 25 common peaks were calibrated, and 9 chromatographic peaks were identified. Both cluster analysis and principal component analysis could classify 16 batches of samples into two categories; five principal components were obtained by principal component analysis, and their cumulative variance contribution rate was 89.70%; five index components were screened by orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA), which were sophocarpine, loganic acid, caffeic acid, phellodendrine, chicoric acid. A method for the determination of 9 index components in Shuzhi Lotion was established. RSDs of precision, repeatability and stability tests were less than 3%. The recoveries were in the range of 96.44%-104.39%, and the RSD values were less than 2.96%. The contents of sophocarpine, loganic acid, chlorogenic acid, gentiopicoside, caffeic acid, phellodendrine, polydatin, chicoric acid and emodin-8-O-glucose were 316.59-546.00, 976.59-1407.60, 355.51-578.20, 1545.37-1943.61, 93.93-183.99, 76.81-151.27, 254.43-529.86, 301.61-701.20, 195.85-338.85 μg/ml, respectively. **Conclusion** The method established in this study was accurate, stable and reliable, which could comprehensively and effectively evaluate the quality of Shuzhi Lotion.

[Key words] Shuzhi Lotion; HPLC fingerprint; content determination; chicoric acid; polydatin; sophocarpine

[基金项目] 广东省中医药局科研项目(20242102)

[作者简介] 叶紫薇, 硕士研究生, 研究方向: 医院制剂和调剂, Tel: 13826791750, Email: y13826791750@163.com

[通信作者] 顾卫, 本科, 主任中药师, 研究方向: 中药学研究, Tel: 13927304271, Email: gw13927304271@163.com

舒痔洗液是惠州市中医医院肛肠科主任医师根据中医理论为指导化裁组方获得的经验方,已经在临床应用近10年,获得了很好的临床疗效与口碑。广东处于岭南之地,患者多为脾虚体质,脾虚易生湿,故根据岭南本地的气候特性,惠州市中医医院肛肠科专家自拟“舒痔洗液”方,以清热祛湿止痛类药物为主组成复方,方中重用蒲公英清热解毒、利湿通淋,为君药,辅以黄柏、虎杖助清泄下焦湿热,散瘀止痛;生地黄清热凉血、清血分热,两者相合,共成清热凉血、解毒利湿之效。秦艽、苦参祛风除湿止痛;冰片清热止痛,诸药合用,药证相合,共奏清热祛湿、消肿止痛之效,为治疗混合痔之良方。

由于方中药材较多、成分复杂多样,饮片的来源产地、采收时间、炮制等都会影响方中的化学成分从而影响成型制剂的质量,并且制剂的生产过程涉及提取、浓缩、纯化、成型等多个工艺单元,检验和测定其中的指标性成分以确保标准化生产,可以减少制剂批间质量差异。为了较为全面地确认方中化学成分的种类和数量以确保制剂的质量相对一致,使用指纹图谱这种灵敏性、专一性和整体性强的质量控制方法来对舒痔洗液的质量进行控制^[1]。指纹图谱的分析方法目前以色谱法^[2-3]最为常用,一般首选HPLC法,对含生物碱、蒽醌、黄酮、有机酸、酚类、木脂素等成分的中药均可采用,为制剂的指纹图谱评价及其质量控制提供足够的信息。

因此,本研究采用HPLC法建立舒痔洗液的指纹图谱,并测定方中槐果碱、马钱苷酸、绿原酸、龙胆苦苷、咖啡酸、黄柏碱、虎杖苷、菊苣酸、大黄素-8-O-葡萄糖的含量,从定性和定量两方面控制该方的质量,同时使用化学模式分析方法评价不同批次舒痔洗液的质量,为该方后续的制剂研究提供质量标准参考依据。

1 材料

1.1 仪器

LC-2030 Plus 高效液相色谱仪(日本岛津公司);SHZ-II型循环水真空泵(上海亚荣生化仪器厂),RE-52A 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂),TC-15 套式恒温器(海宁市新华医疗器械厂),PT-104/35S 型电子分析天平(福州华志科学仪器有限公司),G-060S 型超声波清洗机(深圳市歌能炉制造厂),HH-6 型数显恒温水浴锅(常州智博瑞仪器制造有限公司),Direct-DSUV/超纯水一体化系统[默克化工技术(上海)有限公司]。

1.2 材料

舒痔洗液中各单味饮片的来源信息见表1,基于药材收集进度、道地药材产区、质量特性、方便生产4个方面选择不同产地和批次的饮片,各饮片经广州中医药大学惠州医院(惠州中医医院)陈国珍主任中药师鉴定均为真品,且符合2020年版《中国药典》相关项下规定;以从源头上减少因药材变异带来的批间差异,为后续舒痔洗液指纹图谱的建立提供可靠、均一的样品。槐果碱(批号:AFCB1310)、马钱苷酸(批号:AZEB1908)、绿原酸(批号:AFDE1405)、龙胆苦苷(批号:AZ22011365)、黄柏碱(批号:AFBH0801)、咖啡酸(批号:AFCC1051)、虎杖苷(批号:AFBL0754)、菊苣酸(批号:AFCF1203)、大黄素-8-O-葡萄糖苷(批号:AZDC1309)购自成都埃法生物科技有限公司,纯度皆为98%。色谱级磷酸(批号:C15207458)、色谱级冰乙酸(批号:C16081186)、色谱级异丙醇(批号:C14851872)购自麦克林科技股份有限公司,色谱级甲酸(批号:E2431181)购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司,色谱级乙腈(批号:JA144730)、色谱级甲醇(批号:I1338907416)购自默克科技股

表1 10批舒痔洗液中各单味饮片的来源信息

编号	蒲公英		虎杖		苦参		地黄		黄柏		秦艽		冰片	
	产地	批号	产地	批号	产地	批号	产地	批号	产地	批号	产地	批号	产地	批号
S1	安徽	230202	湖北	221201	广西	221201	河南	230301	四川	221102	内蒙古	230301	福建	230614
S2	江苏	2411001	湖北	240401	辽宁	240701	河南	2409044	四川	202406505-2	四川	241101	福建	240409
S3	甘肃	202407501-4	湖北	240201	广西	240601	河南	240701	四川	2412050	内蒙古	240901	福建	230614
S4	甘肃	2408001	湖北	240701	陕西	C22056101	河南	2407300582	四川	221102	内蒙古	230301	福建	240409
S5	江苏	2409001	湖北	240901	辽宁	240901	河南	240601	四川	202406505-2	四川	241101	福建	230614
S6	江苏	202404532-1	湖北	240601	辽宁	250101	河南	2406140072	贵州	C24012601	四川	240501	福建	230614
S7	甘肃	2408001	湖北	230502	辽宁	240801	山西	20240301	四川	221102	四川	241101	福建	230614
S8	江苏	202406524-2	浙江	C23031301	辽宁	240901	山西	20241201	四川	2412050	云南	C24006001	福建	240409
S9	江苏	2503001	湖北	241201	辽宁	241101	河南	2412024	四川	2411002	四川	240501	福建	240409
S10	甘肃	C24019201	湖北	240901	辽宁	240801	河南	C23031905	四川	2412050	内蒙古	230301	福建	240409

份有限公司, 甲醇(批号: 20231113)购自广东光华科技有限公司, 超纯水, 实验室制备的舒痔洗液(批次: 25051501, 25051502, 25052003, 25052704, 25051505, 25052706, 25052607, 25052608, 25052009, 25052610, 依次编号为 S1-S10; 25121601, 25121602, 25122203, 25122204, 25091805, 25122206, 依次编号为 S11-S16, S11-S16 批次所使用饮片为 S1 批次使用的饮片)。

2 方法和结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Shim-pack GIST C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm)色谱柱; 流动相为 0.2% 磷酸水(A)和乙腈(B), 洗脱梯度为 1~3 min, 5%~6%B; 3~20 min, 6%~12%B; 20~30 min, 12%~15%B; 30~40 min, 15%~20%B; 40~50 min, 20%~25%B; 50~60 min, 25%~30%B; 60~70 min, 30%~5%B; 70~80 min, 5%B; 检测波长为 210 nm; 流速为 0.6 ml/min; 柱温为 30℃; 进样量为 10 μl。

2.2 溶液配制

2.2.1 供试品溶液制备

精密吸取舒痔洗液 2 ml 于 10 ml 的量瓶中, 加甲醇适量, 超声(功率 360 W, 频率 40 kHz)10 min, 放冷后定容至刻度, 混匀, 6 500 r/min 离心 10 min, 取上清液过 0.22 μm 的微孔滤膜, 取续滤液即得。

2.2.2 对照品溶液制备

分别精密称取槐果碱、马钱苷酸、绿原酸、龙胆苦苷、咖啡酸、黄柏碱、虎杖苷、菊苣酸、大黄素-8-O-葡萄糖苷对照品适量, 加甲醇制成浓度分别为 289.30、508.23、253.82、880.24、68.40、92.51、202.66、239.90、148.76 μg/ml 的混合对照品溶液。

2.2.3 单味对照药材溶液制备

取蒲公英、虎杖、苦参、地黄、黄柏、秦艽单味饮片处方量, 按处方工艺制备方法, 分别制成该处方的单味药样品, 并按照“2.2.1”项下供试品溶液制备方法制成蒲公英、虎杖、苦参、地黄、黄柏、秦艽单味对照药材溶液。

2.2.4 阴性供试品溶液制备

按照舒痔洗液处方工艺制备方法取表 1 S9 批药材制备蒲公英、虎杖、苦参、黄柏、秦艽的阴性样品, 并按“2.2.1”项下供试品溶液制备方法制成蒲公英、虎杖、苦参、黄柏、秦艽阴性溶液, 即得。

2.3 指纹图谱研究

2.3.1 参照峰选择

选取在各批次样品中稳定存在, 保留时间和峰

面积大小适中, 且与相邻色谱峰之间有较好分离度的色谱峰龙胆苦苷(12 号峰)作为参照峰, 其分离度>1.50, 拖尾因子在 0.95~1.05 范围内。

2.3.2 精密度试验

吸取供试品溶液(S9), 按“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 计算得到各共有峰相对保留时间 RSD 值均小于 0.15%(n=6), 相对峰面积 RSD 值均小于 1.67%(n=6), 表明所用仪器和实验方法精密度良好。

2.3.3 稳定性试验

吸取供试品溶液(S9), 分别于 0、2、4、8、12、24 h, 按“2.1”项下色谱条件测定, 结果各共有峰相对保留时间 RSD 值均小于 0.09%(n=6), 相对峰面积 RSD 值均小于 2.87%(n=6), 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.3.4 重复性试验

分别精密吸取 2 ml 舒痔洗液样品(S9)6 份, 按“2.2.1”项下方法制备 6 份供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件测定, 各共有峰相对保留时间 RSD 值均小于 0.13%(n=6), 相对峰面积 RSD 值均小于 1.91%(n=6), 表明建立的方法重复性良好。

2.3.5 指纹图谱的建立及相似度评价

精密吸取 2 ml 16 批舒痔洗液样品(S1-S16), 按“2.2.1”项下方法制备, 再按“2.1”项下色谱条件进样测定, 得到 16 批舒痔洗液样品的液相色谱图, 再导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012 版)进行拟合, 以 S1 为参照图谱, 时间窗宽度设为 0.1, 采用中位数法, 经多点校正和 Mark 匹配模式进行比较^[4-5], 建立 16 批舒痔洗液样品的 HPLC 叠加图谱(S1-S16)及对照图谱(R), 共标记 25 个共有峰, 见图 1。16 批样品与对照图谱相似

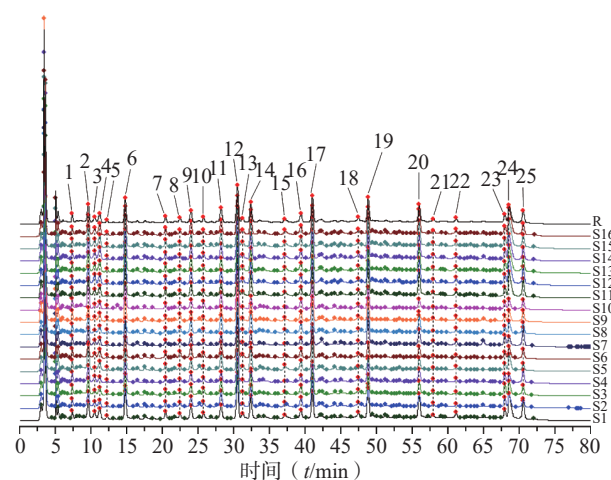


图 1 16 批舒痔洗液样品的 HPLC 指纹图谱(S1-S16)和对照指纹图谱(R)

度评价结果见表2, 16批舒痔洗液样品相似度良好, 表明在定性方面各批次样品特征峰稳定。

表2 16批舒痔洗液指纹图谱相似度评价结果

编号	相似度	编号	相似度
S1	0.992	S9	0.983
S2	0.986	S10	0.967
S3	0.989	S11	0.994
S4	0.985	S12	0.991
S5	0.976	S13	0.989
S6	0.980	S14	0.991
S7	0.987	S15	0.987
S8	0.983	S16	0.988

2.3.6 共有峰的归属和指认

分别取“2.2”项下的供试品溶液、混合对照品溶液、单味对照药材溶液和甲醇溶剂空白溶液按照“2.1”项下色谱条件进行测定。通过比较各色谱图的各项谱峰的相对保留时间, 确定了舒痔洗液中25个共有峰在相关药材中的归属, 结果见图2。1、5、8、9、11、13、20号峰归属于蒲公英, 2、19、21、22、24、25号峰归属于虎杖, 2、3、4、6、8、19、21、23号峰归属于苦参, 11、14、15、16、17、18号峰归属于黄柏, 1、16号峰归属于地黄, 1、7、8、10、12号峰归属于秦艽。通过供试品溶液、混合对照品溶液保留时间及其色谱图对比, 结合蒲公英单味对照药材确定11号峰为绿原酸, 13号峰为咖啡酸, 20号峰为菊苣酸; 结合虎杖单味对照药材确定19号峰为虎杖苷, 25号峰为大黄素-8-O-葡萄糖苷; 结合苦参单味对照药材确定4号峰为槐果碱; 结合黄柏单味对照药材确定11号峰为绿原酸, 14号峰

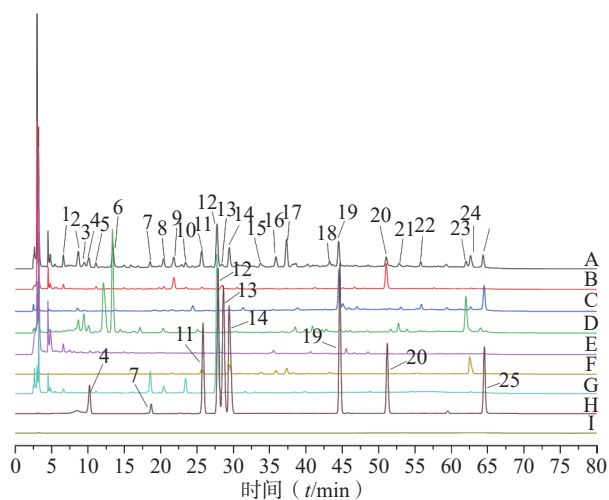


图2 舒痔洗液单味药材 HPLC 图

4.槐果碱; 7.马钱苷酸; 11.绿原酸; 12.龙胆苦苷; 13.咖啡酸; 14.黄柏碱; 19.虎杖苷; 20.菊苣酸; 25.大黄素-8-O-葡萄糖苷; A.供试品溶液; B.蒲公英单味对照药材溶液; C.虎杖单味对照药材溶液; D.苦参单味对照药材溶液; E.地黄单味对照药材溶液; F.黄柏单味对照药材溶液; G.秦艽单味对照药材溶液; H.混合对照品溶液; I.空白溶液

为黄柏碱; 结合秦艽单味对照药材确定7号峰为马钱苷酸, 12号峰为龙胆苦苷。

2.4 化学模式识别分析

2.4.1 聚类分析(CA)

以16批舒痔洗液25个共有峰的峰面积为变量, 经SPSS27.0软件采用ward法进行聚类分析, 结果见图3。d=10时, 16批样品可聚为两类, S2、S3、S4、S5、S6、S7、S8、S9、S10为一类, S1、S11、S12、S13、S14、S15、S16为一类。

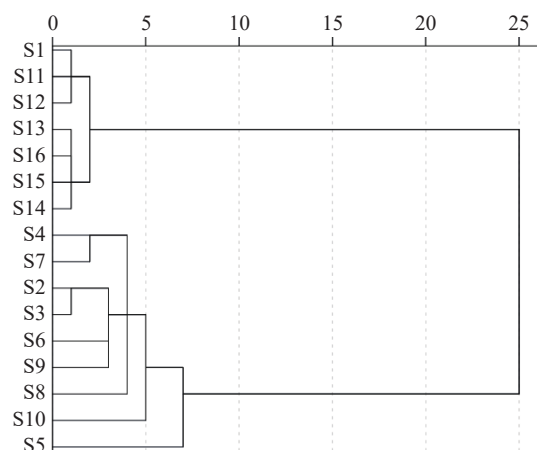


图3 聚类分析图

2.4.2 主成分分析(PCA)

以16批舒痔洗液25个共有峰的峰面积为变量, 运用SIMCA 14.1软件进行分析, 得到PCA得分图(图4)。结果16批舒痔洗液样品可分为2类, 与聚类分析结果基本一致。同时采用SPSS27.0软件进行主成分分析, 得到5个主成分, 其累计方差贡献率为89.70%(表3), 表明这5个主成分因子可代表舒痔洗液的25个共有峰的基本特征与绝大部分信息。成分载荷矩阵(表4)反映5个主成分与25个共有峰原始变量的相关系数, 载荷的绝对值越大, 对主成分的贡献越大, 越能反映相应峰的信息。其中, 峰3、4(槐果碱), 7(马钱苷酸), 9、13(咖啡酸), 14(黄柏碱), 15、16、18、20(菊苣酸), 21、22、24载荷绝对值在0.799~0.974范围内, 对主成分1贡献较大; 峰11(绿原酸)载荷绝对值为0.930, 对主成分2贡献较大; 峰2载荷绝对值为0.741, 对主成分3贡献较大; 峰8载荷绝对值为0.659, 对主成分4贡献较大; 峰25(大黄素-8-O-葡萄糖苷)载荷绝对值为0.529, 对主成分5贡献较大; 表明样品质量差异性由多个主成分共同影响, 可推测槐果碱、马钱苷酸、黄柏碱、绿原酸、咖啡酸、菊苣酸、大黄素-8-O-葡萄糖苷等7个已指认出的成分对样品品质有明显的影响, 可为舒痔洗液质量评价选用含量测定成分提供参考依据。

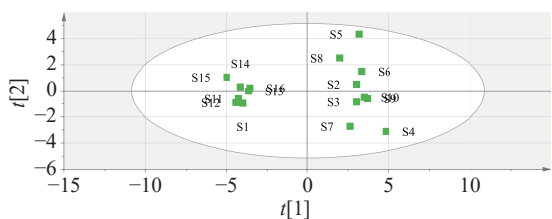


图4 16批舒痔洗液样品的PCA得分图

表3 16批舒痔洗液样品指纹图谱PCA特征值及方差贡献率

成分	特征值	方差贡献率(%)	累积方差贡献率(%)
1	14.780	59.121	59.121
2	3.297	13.188	72.309
3	1.866	7.466	79.774
4	1.461	5.843	85.617
5	1.021	4.085	89.702

表4 16批舒痔洗液样品指纹图谱共有峰PCA成分载荷矩阵

共有峰	成分1	成分2	成分3	成分4	成分5
峰1	-0.740	-0.048	0.018	0.372	0.335
峰2	0.203	0.333	-0.741	-0.042	0.442
峰3	0.883	-0.361	-0.069	-0.061	-0.209
峰4(槐果碱)	0.938	0.206	-0.010	0.059	-0.085
峰5	0.169	0.547	0.568	-0.209	-0.018
峰6	0.854	-0.309	-0.351	0.146	-0.115
峰7(马钱苷酸)	0.890	0.082	-0.184	0.136	-0.132
峰8	0.501	0.302	0.349	0.659	-0.163
峰9	0.799	0.353	0.327	-0.127	-0.062
峰10	0.720	-0.323	-0.446	-0.022	-0.047
峰11(绿原酸)	0.190	0.930	-0.146	-0.055	0.186
峰12(龙胆苦苷)	0.777	0.066	-0.343	0.449	-0.121
峰13(咖啡酸)	0.963	0.027	-0.019	-0.061	-0.110
峰14(黄柏碱)	0.823	0.219	0.051	-0.323	0.102
峰15	0.875	0.250	-0.025	0.093	0.040
峰16	0.816	0.488	0.028	-0.001	0.133
峰17	0.750	0.514	-0.079	-0.134	-0.057
峰18	0.833	-0.435	0.161	-0.009	-0.106
峰19(虎杖苷)	0.735	-0.419	0.278	0.021	0.272
峰20(菊苣酸)	0.970	-0.070	0.064	-0.117	0.032
峰21	0.910	-0.302	0.114	0.027	-0.027
峰22	0.886	-0.169	0.203	0.001	0.265
峰23	0.530	-0.492	0.039	-0.496	0.262
峰24	0.974	0.061	-0.060	-0.031	-0.002
峰25(大黄素-8-O-葡萄糖苷)	0.564	-0.268	0.297	0.421	0.529

2.4.3 正交偏最小二乘法-判别分析

将25个共有峰峰面积导入SIMCA14.1中进行正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA)。结果显示,评价OPLS-DA的3个指标:模型拟合参数 $R^2X=0.704$, $R^2Y=0.985$,模型预测参数 $Q^2=0.968$,均>0.5,表明此模型稳定、预测能力较强。对该模型进行200次置换检验,见图5; R^2 在Y轴的截距为0.402, Q^2 在轴的截距为-0.553,且 Q^2 为负值,表明该模型不存在过拟合,模型验证有效,认为该结果可用于舒痔洗液样品的判别分析。采用VIP法,筛选出舒痔洗液的差异标志物($VIP>1$ 且误差线不超过原点),见图6;共找到14个标志性成分(图中红色部分),VIP值由大到小依次是:24号峰>20号峰(菊苣酸)>13号峰(咖啡酸)>3号峰>21号峰>4号峰(槐果碱)>6号峰>7号峰(马钱苷酸)>22号峰>

18号峰>15号峰>16号峰>9号峰>14号峰(黄柏碱),VIP值越大,成分对样品分类贡献越大。结果

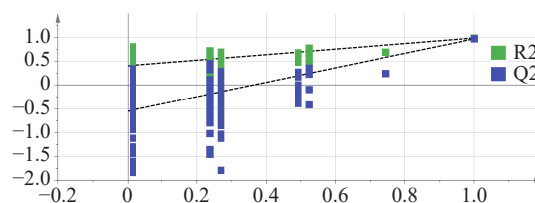


图5 16批舒痔洗液OPLS-DA的200次置换检验图

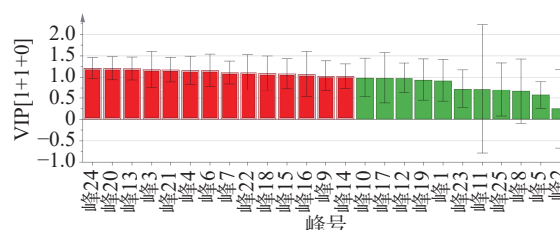


图6 16批舒痔洗液中25个共有峰的VIP值

显示, 16批样品分类情况与CA、PCA一致, 且VIP值大于1的14个标志性成分与主成分分析中主成分1得出的代表峰高度重合。根据峰归属情况, 发现这些差异峰为各药材的特征峰和主要贡献峰, 其中峰9、13(咖啡酸)、20(菊苣酸)归属于蒲公英; 峰21、22、24归属于虎杖; 峰3、4(槐果碱)、6归属于苦参; 峰14(黄柏碱)、15、16、18归属于黄柏; 峰7(马钱苷酸)归属于秦艽, 提示在后续研究和产品生产中应重点控制蒲公英、虎杖、苦参、秦艽、黄柏药材质量。

2.5 含量测定

2.5.1 专属性试验

取“2.2”项下的供试品溶液、混合对照品溶液、甲醇溶剂空白溶液和阴性样品溶液, 按“2.1”项下液相色谱条件进样测定, 结果见图7, 210 nm检测波长下, 空白溶剂基线平整无干扰峰, 供试品色谱显示目标成分峰槐果碱、马钱苷酸、绿原酸、龙胆苦苷、咖啡酸、黄柏碱、虎杖苷、菊苣酸、大黄素-8-O-葡萄糖苷, 对照品色谱与供试品色谱目标成分峰出峰时间相同, 也无其他色谱峰干扰, 阴性对照色谱中目标成分峰相同出峰时间无其他色谱峰干扰, 表明该方法专属性较好。

2.5.2 线性关系考察

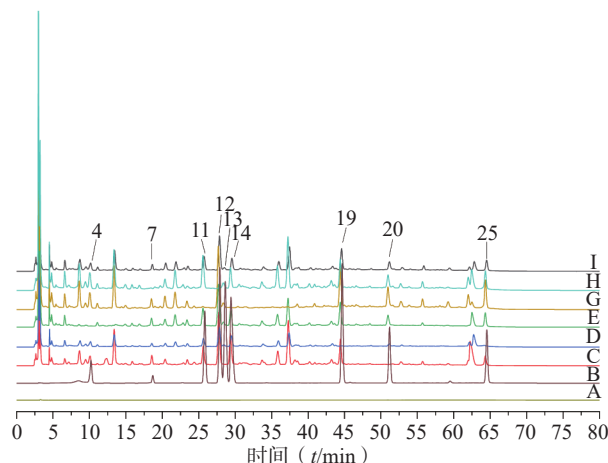


图7 舒痔洗液专属性试验 HPLC 图 (210 nm)

4.槐果碱; 7.马钱苷酸; 11.绿原酸; 12.龙胆苦苷; 13.咖啡酸; 14.黄柏碱; 19.虎杖苷; 20.菊苣酸; 25.大黄素-8-O-葡萄糖苷; A: 空白溶液; B: 混合对照品; C: 蒲公英阴性供试品溶液; D: 虎杖阴性供试品溶液; E: 苦参阴性供试品溶液; G: 黄柏阴性供试品溶液; H: 秦艽阴性供试品溶液; I: 舒痔洗液供试品

取“2.2”项下混合对照品溶液, 分别精密吸取0.25、0.5、1、2、4、6、10 ml 溶液于10 ml 量瓶, 用甲醇稀释定容成系列质量浓度的溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 以对照品实际进样量($\mu\text{g/ml}$)为横坐标(X)、峰面积为纵坐标(Y), 进行线性回归分析, 结果见表5。

表5 舒痔洗液中各成分线性关系考察结果

成分	回归方程	r	线性范围($\mu\text{g/ml}$)
槐果碱	$Y=23\ 577.0X+24\ 061.0$	0.999 6	7.23 ~ 289.30
马钱苷酸	$Y=5\ 801.7X+9\ 179.3$	0.999 4	12.71 ~ 508.23
绿原酸	$Y=33\ 600.0X-10\ 113.0$	0.999 6	6.35 ~ 253.82
龙胆苦苷	$Y=17\ 506.0X+21\ 040.0$	0.999 6	22.01 ~ 880.24
咖啡酸	$Y=55\ 006.0X+9\ 904.5$	0.999 5	1.71 ~ 68.40
黄柏碱	$Y=157\ 814.0X+122\ 147.0$	0.999 1	2.31 ~ 92.51
虎杖苷	$Y=50\ 437.0X+10\ 036.0$	0.999 5	5.07 ~ 202.66
菊苣酸	$Y=44\ 553.0X-423\ 360.0$	0.999 1	6.00 ~ 239.90
大黄素-8-O-葡萄糖苷	$Y=55\ 075.0X+32\ 963.0$	0.999 4	3.72 ~ 148.76

2.5.3 精密度试验

精密吸取“2.2.2”项下混合对照品溶液稀释, 在“2.1”项下色谱条件连续进样6次, 9个成分峰面积RSD值为0.18%、0.32%、0.49%、0.34%、0.70%、0.39%、0.36%、0.33%、0.42%($n=6$), 表明该仪器精密度良好。

2.5.4 重复性试验

分别精密吸取2 ml 舒痔洗液样品(S9)6份, 按“2.2.1”项下方法平行制备6份供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 9个成分平均含量分别为400.66、971.54、423.27、1 764.98、100.18、

144.25、382.03、237.44、339.87 $\mu\text{g/ml}$, RSD值为0.64%、0.46%、0.65%、0.62%、1.34%、0.60%、0.90%、1.12%、1.21%($n=6$), 表明该方法重复性良好。

2.5.5 稳定性试验

精密吸取2 ml 舒痔洗液样品(S9), 按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液, 分别于0、2、4、8、12、24 h, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 9个成分峰面积RSD值为1.00%、0.40%、0.87%、0.84%、1.57%、0.86%、0.79%、1.04%、1.47%($n=6$), 表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.5.6 加样回收率试验

精密称定对照品,按“2.2.2 溶液制备”项下方法制备混合对照品溶液,单独精密称定菊苣酸对照品,加入甲醇溶解定容得菊苣酸对照品溶液;分别精密吸取 1 ml 舒痔洗液样品(S9)6份,分别加入以上相应的混合对照品溶液和菊苣酸对照品溶液;按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液,“2.1”项下色谱条件进样测定,槐果碱、马钱苷酸、绿原酸、龙胆苦苷、咖啡酸、黄柏碱、虎杖苷、菊苣酸、大黄素-8-O-葡萄糖苷的平均加样回收率分别为 103.34%、

96.44%、102.31%、99.28%、104.39%、101.85%、97.97%、97.52%、100.80%,RSD 值为 2.75%、2.96%、2.78%、2.66%、2.75%、2.54%、2.71%、2.25%、2.88%($n=6$)。结果符合 2020 版《中国药典》中 RSD 值 $\leq 3\%$ 、回收率在 90%~108% 的相关规定。

2.5.7 不同批舒痔洗液含量测定

分别精密吸取 2 ml 16 批舒痔洗液样品(样品 S1~S16),按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液,在“2.1”项下色谱条件进样测定,结果见表 6。

表 6 舒痔洗液各组份含量测定结果 ($\mu\text{g/ml}$)

编号	槐果碱	马钱苷酸	绿原酸	龙胆苦苷	咖啡酸	黄柏碱	虎杖苷	菊苣酸	大黄素-8-O-葡萄糖苷
S1	520.27	1 392.01	438.65	1 856.07	179.86	150.37	423.91	701.20	317.27
S2	366.37	1 044.18	469.46	1 652.94	116.32	131.16	342.27	349.98	195.85
S3	382.81	1 044.20	457.76	1 650.74	95.12	134.29	365.48	358.92	305.83
S4	316.59	1 010.88	355.51	1 545.37	114.03	88.52	406.99	385.37	256.04
S5	426.91	1 292.14	578.20	1 724.79	123.56	123.76	254.43	334.47	262.65
S6	415.31	1 266.76	455.50	1 817.66	110.30	80.85	278.39	308.18	216.93
S7	387.99	1 109.04	382.03	1 730.48	101.78	91.42	473.30	430.08	328.64
S8	401.24	1 071.85	533.09	1 622.31	104.74	125.05	479.63	468.19	331.55
S9	403.00	976.59	427.92	1 783.56	102.09	100.54	389.73	301.61	329.72
S10	347.11	1 236.64	467.10	1 908.73	93.93	76.81	372.11	312.89	292.16
S11	490.66	1 279.25	429.66	1 810.72	156.85	137.95	529.86	675.38	329.24
S12	488.68	1 272.44	427.70	1 804.23	156.92	136.73	528.55	675.16	336.72
S13	483.75	1 263.80	424.51	1 790.32	155.30	136.01	525.65	670.63	338.85
S14	539.87	1 390.25	477.22	1 925.86	180.56	149.37	490.54	679.45	318.04
S15	546.00	1 407.60	484.27	1 942.61	183.99	151.27	496.65	695.45	332.65
S16	536.06	1 386.51	476.90	1 911.16	181.76	148.95	489.35	687.23	336.02

3 讨论

3.1 色谱条件的确认

对舒痔洗液色谱条件的测定波长、色谱柱、流动相及流速进行系统考察^[6-7]。大多数成分在波长 210 nm 下吸收值较大,且分离效果及峰形好,阴性对照无干扰;故选择波长 210 nm 进行测定。色谱柱对比考察 Waters T₃ 柱(250 mm \times 4.6 mm, 2.5 μm)、Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm)与 Shim-pack GIST C₁₈ 柱(150 mm \times 4.6 mm, 5 μm)、Agilent 色谱柱色谱峰最少, Waters 色谱柱虽色谱峰数目多,但杂峰较多且多数色谱峰的分离度、拖尾因子均差于岛津色谱柱,岛津色谱柱虽色谱峰数略少,但吸收较强的色谱峰分离度、拖尾因子均符合检测要求,最终选择 Shim-pack GIST C₁₈ 柱(150 mm \times 4.6 mm, 5 μm)为分析色谱柱。流动相分别考察 0.1% 甲酸水-乙腈、0.1% 冰乙酸水-乙腈、0.1% 磷酸水-甲醇、0.1% 磷酸水-乙腈和 0.2% 磷酸水-乙腈体系,0.1% 甲酸水-乙腈和 0.1% 冰乙酸水-乙腈体系下谱图基线漂移不稳且局部起伏;0.1% 磷酸水-甲醇体系下色谱峰数目最少;0.2% 磷

酸水-乙腈较 0.1% 磷酸水-乙腈色谱峰数目更多、分离效果更好;因此选择 0.2% 磷酸水-乙腈为流动相。流速依次考察 1.0、0.8、0.6 ml/min,流速过快时,槐果碱与 2、3 号峰,龙胆苦苷与咖啡酸不能分离,0.6 ml/min 时各待测成分无阴性干扰,且分离度、拖尾因子均在合格范围内,故确定 0.6 ml/min 为检测流速。

3.2 质量评价

本研究综合运用指纹图谱、CA、PCA、OPLS-DA 以及多指标成分含量测定方法,对 16 批舒痔洗液开展系统质量评价。16 批样品指纹图谱、化学模式分析、多指标成分含量测定分析结果具有一致性,各结果相互印证,表明使用以上研究方法对 16 批样品进行质量评价较为可靠。采用 HPLC 建立舒痔洗液的指纹图谱,在 210 nm 下共匹配出 25 个共有峰,其中指认了 9 个化学成分。16 批样品的相似度均大于 0.96,说明各批次样品间所含成分种类差异不明显。

3.2.1 化学模式识别结果分析

进一步基于指纹图谱共有峰峰面积进行化学模式分析,3 种化学模式分析方法结果具有一致

性。PCA 共提取 5 个主成分, 累计方差贡献率达 89.70%, 可全面反映样品质量特征, 进一步佐证了 16 批舒痔洗液批次间成分含量具有差异。OPLS-DA 筛选出 VIP 值大于 1 的批次间差异标志物菊苣酸、咖啡酸、马钱苷酸、槐果碱、黄柏碱主要来源于蒲公英、黄柏、苦参、秦艽 4 种药材, 提示应重点关注上述药材的质量。

3.2.2 含量测定成分的选择及结果分析

通过 PCA 分析和 OPLS-DA 分析结合 VIP 值大于 1 进行筛选, 确定了菊苣酸、咖啡酸、马钱苷酸、槐果碱、黄柏碱 5 个关键指标性成分, 提示其可能是导致批次间质量波动的潜在关键差异质量标志物, 因此 5 个关键指标性成分可作为舒痔洗液的部分含量测定分析指标。根据《中国药典》各药材含量测定项和组方“君臣佐使”原则, 虎杖苷和龙胆苦苷分别可为臣药虎杖和佐药秦艽的含量测定指标性成分。已有研究显示, 虎杖煎液和虎杖苷抗炎、减轻组织水肿、镇痛、改善微循环等药理作用在防治混合痔和混合痔术后并发症作用明显^[8-11]。秦艽中环烯醚萜类成分包括龙胆苦苷具有抗炎的药理作用, 可抑制炎症介质^[12-13]。同时, 绿原酸作为黄柏特征性酚酸类成分也有强大的抗炎作用, 能调节炎症介质和炎症相关的信号通路, 也能直接杀灭或抑制肛周常见致病菌, 阻断感染性炎症的恶性循环^[14]。大黄素-8-O-葡萄糖是虎杖饮片主要的活性成分之一, 有一定的抗炎活性^[15]。鉴于上述成分的药理作用及其在方剂中的整体性, 本研究增加虎杖苷、龙胆苦苷、绿原酸和大黄素-8-O-葡萄糖 4 个成分作为其余含量测定指标性成分。

在 HPLC 指纹图谱和化学计量学基础上兼顾中药组方“君臣佐使”原则和药材各成分药理作用与舒痔洗液适应症的关联性, 选择君药蒲公英中菊苣酸、咖啡酸, 臣药虎杖中虎杖苷、大黄素-8-O-葡萄糖苷, 黄柏中黄柏碱、绿原酸以及苦参中槐果碱, 以及佐药秦艽中龙胆苦苷、马钱苷酸进行含量测定, 16 批舒痔洗液间 9 个成分的含量差异较显著。含量结果显示, S15、S11、S1、S14、S12、S13 和 S16 批次中 9 个成分含量相对其他批次均较高, 与 CA 分析结果一致。通过分别计算这 9 个成分与其对应成分总含量平均值的偏差率得知, 菊苣酸、咖啡酸、黄柏碱、虎杖苷、槐果碱、马钱苷酸偏差最大, 可能与生产工艺或蒲公英、虎杖、黄柏、苦参、秦艽药材质量有关; 以上含量偏差率较大的成分和所属药材与 PCA、OPLS-DA 分析筛选的指标性成分和所属药材一致。

16 批舒痔洗液呈现显著聚类现象和化学成分含量差异, 客观地反映各批次样品在关键成分上的差异性表现, 表明原药材质量可能是影响产品批次间各成分含量差异的主要因素。同一批次的药材制备的不同批次产品(S15、S11、S1、S14、S12、S13 和 S16)各关键性成分含量有差异, 表明制备生产、实验操作过程等可能对产品有影响。总的来说, 16 批舒痔洗液质量差异可能源于多方面因素: 生产厂家、产地、采收季节、炮制方法与储存条件不同会使原药材质量产生差异; 制备工艺中煎煮、浓缩、纯化等环节参数不稳定也会影响产品质量; 此外人为操作不规范可能会引起误差; 环境温湿度变化可能会导致有效成分分解。因此, 在后续工作中应固定药材来源和产地, 优化并标准化生产工艺, 加强产品稳定性研究, 同时结合指纹图谱、化学计量学与含量测定等现代质量控制技术, 构建完善的质量控制体系, 确保舒痔洗液质量稳定可控。

综上所述, 本研究建立了指纹图谱和 9 个成分的含量测定方法, 通过化学模式识别挖掘指纹图谱中的数据信息, 可有效评价舒痔洗液整体质量情况, 为舒痔洗液的质量控制以及后续的制剂开发提供参考依据。此外, 指纹图谱研究指认了部分可能影响舒痔洗液质量差异的关键成分, 还有一些影响舒痔洗液质量的色谱峰(24 号峰、3 号峰、21 号峰、6 号峰、22 号峰、18 号峰、15 号峰、16 号峰、9 号峰)未被指认出, 后续将通过 LC-MS 进一步检测, 为舒痔洗液质量控制提供更完整、科学的依据。

【参考文献】

- [1] 王锦轩, 姚霞, 李耿. 基于化学特征的中药鉴定技术进展及趋势 [J]. 中国中药杂志, 2024, 49(17): 4617-4629.
- [2] 陈士林, 郭宝林, 张贵君, 等. 中药鉴定学新技术新方法研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(8): 1043-1055.
- [3] 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.
- [4] 吕渭升, 李振雨, 侯翔轩, 等. 基于 UPLC 指纹图谱和化学计量学评价不同产地青蒿药材质量 [J]. 中国中医药信息杂志, 2023, 30(3): 107-113.
- [5] 孙国祥, 闫波, 侯志飞, 等. 中药色谱指纹图谱评价方法研究进展 [J]. 中南药学, 2015, 13(7): 673-681.
- [6] 赵伟, 陈树和, 闫斌, 等. 基于指纹图谱结合化学模式识别的精天颗粒质量评价 [J]. 中国药房, 2025, 36(3): 300-305.
- [7] 陈莹莹, 高永坚, 邓亚利. 清经散超高效液相色谱指纹图谱建立与指标性成分含量测定 [J]. 中国药业, 2025, 34(21): 80-86.
- [8] 侯淇允, 张林林, 郝艳琦, 等. 虎杖研究进展及质量标志物预测 [J]. 中国现代中药, 2024, 26(5): 912-926.
- [9] 丰艳梅, 车晓侠. 复方虎杖烧伤凝胶抗炎镇痛作用实验研究 [J]. 中国药师, 2010, 13(5): 620-622.
- [10] 谭子明, 周涛. 基于 PI3K/Akt/mTOR 信号通路探讨虎杖对烧

- 伤创面的干预效果 [J]. 解剖科学进展, 2025, 31(4): 450-452,457.
- [11] 陈泽芄. 痔瘘熏洗方治疗混合痔术后疼痛的回顾性研究及大黄素靶向 TRPV1 的机制研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2024.
- [12] 陈长勋, 刘占文, 孙峥嵘, 等. 龙胆苦苷抗炎药理作用研究 [J]. 中草药, 2003, 34(9): 814-816.
- [13] 宝钢, 图诺木拉, 朝格巴达拉夫, 等. 龙胆属秦艽组植物化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中成药, 2024, 46(8): 2689-2697.
- [14] 凌鑫萍, 晏伟, 杨芬, 等. 绿原酸改善炎症性疾病的研究进展 [J]. 中南大学学报(医学版), 2023, 48(10): 1611-1620.
- [15] 舒宇航, 朱映睿, 郑宇锟, 等. 虎杖一体化饮片与传统饮片活性成分及体外抗炎作用比较研究 [J]. 中国中药杂志, 2022, 47(13): 3495-3500.
- [收稿日期] 2025-12-31 [修回日期] 2026-05-12
[本文编辑]