

## 固精麦斯哈片的 HPLC 特征图谱与化学模式识别研究

常道潇<sup>1</sup>, 耿小秀<sup>1</sup>, 李辉<sup>1</sup>, 温锦荣<sup>2</sup>, 王震<sup>2\*</sup>

(1. 陕西盛德泰林生物安全技术检测有限公司, 西安 710065; 2. 西安万隆制药股份有限公司, 西安 710119)

**摘要** 目的: 建立固精麦斯哈片 HPLC 特征图谱, 并运用化学模式识别进行质量评价研究。方法: 采用 Welch Xtimate C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 以乙腈(A) - 0.1% 甲酸(B) 为流动相进行梯度洗脱 (0 ~ 10 min, 5% A → 15% A; 10 ~ 20 min, 15% A; 20 ~ 40 min, 15% A → 40% A; 40 ~ 65 min, 40% A → 70% A; 65 ~ 66 min, 70% A → 90% A; 66 ~ 80 min, 90% A; 80 ~ 81 min, 90% A → 5% A; 81 ~ 85 min, 5% A), 流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, 检测波长 254 nm, 柱温 35 °C。建立固精麦斯哈片特征图谱, 并进行相似度评价、聚类分析、主成分分析和正交偏最小二乘判别分析。结果: 建立了固精麦斯哈片的特征图谱, 从 10 批样品中共确定 28 个共有峰, 指认了其中 7 个成分, 分别为没食子酸、绿原酸、苦番红花素、异槲皮苷、西红花苷 - I、西红花苷 - II、丁香酚。10 批固精麦斯哈片特征图谱与对照图谱的相似度结果均大于 0.98, 聚类分析按照欧氏距离为 10 可将样品分为 2 类, 与主成分分析结果一致。正交偏最小二乘判别分析筛选出 5 个差异性成分, 分别来自丁香、玫瑰花和熏鲁香药材。结论: 本次建立的固精麦斯哈片 HPLC 特征图谱方法高效可行, 重复性好, 可为本品质量标准提高研究提供参考。

**关键词:** 固精麦斯哈片; 特征图谱; 相似度评价; 化学模式识别; 没食子酸; 西红花苷 - I; 西红花苷 - II; 丁香酚

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254 - 1793(2024)11 - 1875 - 10  
doi: 10.16155/j.0254 - 1793.2023 - 0565

## Characteristic chromatogram and quality evaluation of Gujing Maisiha tablets by HPLC coupled with chemometrics

CHANG Dao - xiao<sup>1</sup>, GENG Xiao - xiu<sup>1</sup>, LI Hui<sup>1</sup>,  
WEN Jin - rong<sup>2</sup>, WANG Zhen<sup>2\*</sup>

(1. Shaanxi Shengde Tailin Biological Safety Technical Testing Co., Ltd., Xi'an 710065, China;

2. Xi'an Wanlong Pharmaceutical Co., Ltd., Xi'an 710119, China)

**Abstract Objective:** To establish the HPLC characteristic chromatogram for Gujing Maisiha tablets, and evaluate the quality using chemical pattern recognition. **Methods:** The Welch Xtimate C<sub>18</sub> column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used and the mobile phases were acetonitrile (A) and 0.1% formic acid (B) in gradient elution (0 - 10 min, 5% A → 15% A; 10 - 20 min, 15% A; 20 - 40 min, 15% A → 40% A; 40 - 65 min, 40% A → 70% A; 65 - 66 min, 70% A → 90% A; 66 - 80 min, 90% A; 80 - 81 min, 90% A → 5% A; 81 - 85 min, 5% A). The detection wavelength was 254 nm. The column temperature was 35 °C and the flow rate was 1.0 mL · min<sup>-1</sup>. Gujing Maisiha

\* 通信作者 Tel: 13709210027; E-mail: wz641024@163.com  
第一作者 Tel: 17795121324; E-mail: 17795121324@163.com

tablets were analyzed to construct characteristic chromatogram. The quality of Gujing Maisiha tablets was assessed through similarity evaluation, cluster analysis, principal component analysis (PCA), and partial least squares discriminant analysis (PLS - DA). **Results:** The characteristic chromatogram of Gujing Maisiha tablets was established, which contained the twenty - eight distinct peaks, and seven compounds identified as gallic acid, chlorogenic acid, picrocrocin, isoquercitrin, crocin - I, crocin - II, eugenol. The similarities for the ten batches of Gujing Maisiha tablets were more than 0.98, with no significant difference observed. Cluster analysis segregated the samples into two distinct groups according to the Euclidean distance of 10, which was consistent with the results of PCA analysis. PLS - DA analysis screened out five components from *Flos Caryophylli*, *Rosae Rugosae* Flos, *Olibanum* that may cause differences between samples. **Conclusion:** The method of HPLC characteristic chromatogram of Gujing Maisiha tablets is effective, feasible and reproducible, which can provide reference for the study of quality standard of this product.

**Keywords:** Gujing Maisiha tablets; characteristic chromatogram; similarity evaluation; chemical pattern recognition; gallic acid; crocin - I; crocin - II; eugenol

固精麦斯哈片是由阿纳其根、肉豆蔻、熏鲁香、玫瑰花、西红花和丁香等药材制成的中药复方制剂,为维药组方,来源于汗时代西域三十六国之一的莎车国,组方中药材是维吾尔医学家贾马力丁·阿克萨拉根据《哈孜巴依药书》特性配伍组成,并于11世纪收入阿克萨拉依所著的《白色宫殿》<sup>[1]</sup>,主治增加机体捏住力,强身补脑,固精缩尿,乌发,用于遗精遗尿,早泄体弱,头发早白,神疲乏力等。现代药理研究表明,固精麦斯哈片有改善患者体质黏液质的质量,改善并促进人体热能产生,促进物质代谢活动,祛湿,营养人体性腺和排泄系统等作用<sup>[2-6]</sup>。临床应用发现,固精麦斯哈片对于舌淡、苔白、边有齿痕等中医脾气虚所致的病症治疗效果显著<sup>[2]</sup>,联合天然维生素E对不明原因弱精子症亦有较好的临床效果<sup>[3]</sup>。

固精麦斯哈片最早为《中华人民共和国卫生部药品标准 - 维吾尔分册》(1999年版)收载品种,其质量控制主要是对阿纳其根、丁香及香附的鉴别项,无含量控制指标。国家药品监督管理局固精麦斯哈片药品标准 WS<sub>3</sub> - BW - 0153 - 98 - 1 - 2021,质量控制主要是对丁香及西红花的鉴别项,用气相色谱法测定制剂中丁香酚的含量。固精麦斯哈片质量控制研究文献较少,且基本集中在薄层色谱鉴别及丁香酚的含量控制<sup>[7-8]</sup>,无法充分有效地反映制剂的质量。

本文采用 HPLC 对 10 批固精麦斯哈片样品进行分析,以丁香酚为参照物(S),建立了固精麦斯哈片的特征图谱,在 70 min 内标定了 28 个共有峰,并通过与对照品及药材参照物溶液的保留时间比对,确

定制剂共有峰与各药材的相关性研究及归属。固精麦斯哈片处方组成除丁香<sup>[9]14</sup>、甘松<sup>[9]87</sup>、西红花<sup>[9]134</sup>、肉豆蔻<sup>[9]141</sup>药材外,其余均无含量控制指标,其中阿纳其根、熏鲁香、西红花等各收集 10 批次药材和对照药材,按生产工艺制备并检测,生成药材对照特征图谱,与制剂及阴性样品比对,确定各药材在制剂中的特征峰。建立了固精麦斯哈片 HPLC 特征图谱,并运用主成分分析和系统聚类分析等方法,对数据结果进行分析及进一步探讨,旨在评价产品从原料、工艺过程到最终制剂的传递性及均一稳定性,为本品的质量控制体系建立及全面质量控制提供数据支持。

## 1 仪器与试药

### 1.1 仪器

Agilent 1260 型高效液相色谱仪(DAD 检测器,安捷伦科技有限公司);U3000 型高效液相色谱仪(UV 检测器,赛默飞世尔科技有限公司);BSA124S 型万分之一天平、SQP 型十万分之一天平(赛多利斯科学仪器有限公司);SB5200DTD 型超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司);HH - S8A 电热恒温水浴锅(北京科伟永兴仪器有限公司)。

### 1.2 试药

对照品:西红花苷 - II (批号 111589 - 201705,含量 92.20%)、西红花苷 - I (批号 111588 - 201704,含量 88.40%)、丁香酚(批号 110725 - 201917,含量 99.10%)、苦番红花素(批号 112056 - 202001,含量 97.60%)、没食子酸(批号 110831 - 201906,含量 91.50%)、绿原酸(批号 110753 -

202119, 含量 96.30%), 中国食品药品检定研究院; 异槲皮苷(批号 X29O11Y128970, 含量  $\geq 98\%$ ), 上海源叶生物科技有限公司。

固精麦斯哈片样品 10 批(批号 210101、210102、210103、210901、210902、201201、201202、220801、220802、220803), 西安万隆制药股份有限公司。

西红花药材 10 批(批号 210801、171101、200501、21070201、211201002、20210801、20201201、20220301、01-20120101、02-20040101), 阿纳其根药材 10 批(批号 200501、171201、200701、210901、211101、210701-1、210701-2、200501-1、200501-2、210701), 丁香药材 10 批(批号 20200101、20170801、211224001、21120902、20210301、20201101、20211001、210501、203090401、210701), 香附药材 10 批(批号 171101、210801、22020802、20211001、20211002、20211003、20200701、220301、20190801、200401), 郁金药材 10 批(批号 210801、171101、211216004、21110501、20041603-3、20210903、20210901、220301、2101004、200402), 肉豆蔻药材 10 批(批号 171101、210801、220316002、21052502、20201001、20211101、20210201、190921101、211101、200401), 甘松药材 10 批(批号 200401、20171001、20112002-3、20210701、20211201、20210401、19120502、200901、190481001、210701), 熏鲁香药材 1 批(批号 210801), 草果药材 2 批(批号 210801、20200201), 小豆蔻药材 2 批(批号 210701、200501), 玫瑰花药材 2 批(批号 210801、200401), 西安万隆制药股份有限公司。

乙腈(批号 19801440, 上海安谱实验科技股份有限公司)、甲酸(批号 C2130066, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司)为色谱纯, 甲醇(批号 2022061302, 成都市科隆化学品有限公司)为分析纯, 水为超纯水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

采用 Welch Xtimate C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 以乙腈(A) - 0.1% 甲酸(B) 为流动相, 梯度洗脱(0 ~ 10 min, 5% A → 15% A; 10 ~ 20 min, 15% A; 20 ~ 40 min, 15% A → 40% A; 40 ~ 65 min, 40% A → 70% A; 65 ~ 66 min, 70% A → 90% A; 66 ~ 80 min, 90% A; 80 ~ 81 min, 90% A → 5% A; 81 ~ 85 min, 5% A), 流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, 检测波长 254 nm, 柱温 35 °C, 进样量 10 μL。

### 2.2 溶液的制备

**2.2.1 对照品溶液** 精密称取丁香酚、西红花

苷 - I、西红花苷 - II、苦番红花素的对照品适量, 分别加甲醇制成每 1 mL 含 0.1 mg 的溶液; 精密称取异槲皮苷对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.3 mg 的溶液; 精密称取没食子酸对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.25 mg 的溶液; 精密称取绿原酸对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.35 mg 的溶液。

**2.2.2 供试品溶液** 取固精麦斯哈片, 除去包衣, 研细, 取约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 甲醇 25 mL, 密塞, 称量, 超声处理(功率 240 W, 频率 36 kHz) 20 min, 放冷, 再称量, 用 70% 甲醇补足减失的量, 摇匀, 静置, 上清液使用 0.22 μm 滤膜过滤, 取续滤液, 即得。

**2.2.3 药材溶液** 取阿纳其根、小豆蔻、草果、丁香、西红花药材细粉各约 0.5 g, 精密称定, 分别置具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 甲醇 50 mL, 称量, 自“超声处理”起, 按“2.2.2”项下方法操作, 即得; 或取香附、肉豆蔻、甘松、玫瑰花、郁金药材粗粉各约 0.5 g, 精密称定, 分别加水 50 mL, 煎煮 1 h, 离心, 取上清液, 蒸至近干, 残渣精密加入 70% 甲醇 50 mL, 称量, 自“超声处理”起, 按“2.2.2”项下方法操作, 即得。

### 2.3 HPLC 方法学验证及特征图谱的建立

**2.3.1 精密度试验** 精密吸取同一供试品溶液(批号 210101), 按“2.1”项下色谱条件, 连续进样 6 次, 以丁香酚色谱峰的保留时间和色谱峰面积作为参照, 计算各共有色谱峰相对保留时间的 RSD 为 0 ~ 0.33%, 相对峰面积的 RSD 为 0 ~ 11.27%。非共有峰的色谱峰面积占比 3% 以下, 相似度均 > 0.99。表明本仪器系统的精密度良好。

**2.3.2 稳定性试验** 精密吸取同一供试品溶液(批号 210101), 按“2.1”项下色谱条件, 分别于 0、3、6、9、12、24、36 h 进样测定, 以丁香酚色谱峰的保留时间和色谱峰面积作为参照, 计算各共有色谱峰相对保留时间的 RSD 为 0 ~ 0.53%, 相对峰面积的 RSD 6 号峰为 17.3%, 7 号峰为 36.6%, 其中 6 号色谱峰在 0、24、36 h 3 个时间间隔检测点的峰面积相差不大, 7 号色谱峰在 3、24、36 h 3 个时间间隔检测点的峰面积相差不大, 6 号、7 号色谱峰相对峰面积的 RSD 偏高, 均为中间时间段峰面积波动所致。10 号峰相对峰面积的 RSD 为 22.7%, 除 12、24 h 外, 各时间间隔检测点的峰面积相差不大, 其余 25 个色谱峰相对峰面积的 RSD 为 0 ~ 14.89%, 非共有峰的色谱峰面积占比最高为

5.30%, 相似度均大于 0.99。表明供试品溶液在 36 h 内基本稳定。

**2.3.3 重复性试验** 取同一批样品(批号 210101)6 份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,在“2.1”项色谱条件下测定,以丁香酚色谱峰的保留时间和色谱峰面积作为参照,计算各共有色谱峰相对保留时间的 RSD 为 0~0.27%, 相对峰面积的 RSD 为 0~7.17%, 非共有峰的色谱峰面积占比低于 4%, 相似

度均大于 0.99。表明本方法的重复性良好。

**2.3.4 特征图谱的建立** 取 10 批固精麦斯哈片样品进样测定,记录色谱图,将数据导入国家药典委员会制定的《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012.130723 版本),选定 210101 批次样品的色谱图为参考图谱,进行多点校正和 Mark 峰匹配,采用中位数法,设定时间窗宽度为 0.1,生成样品叠加图谱(图 1)和相应的对照图谱(图 2)。

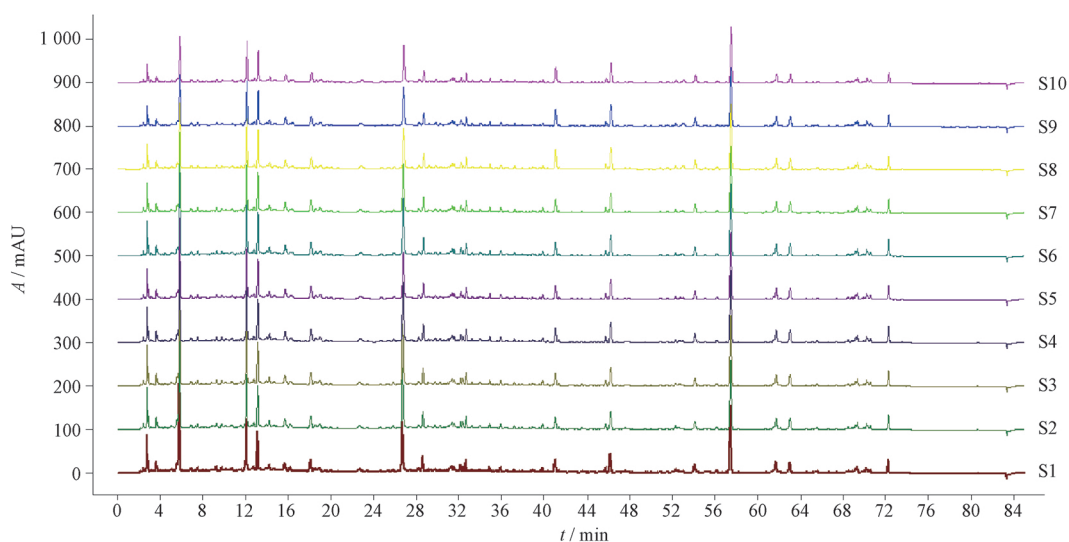
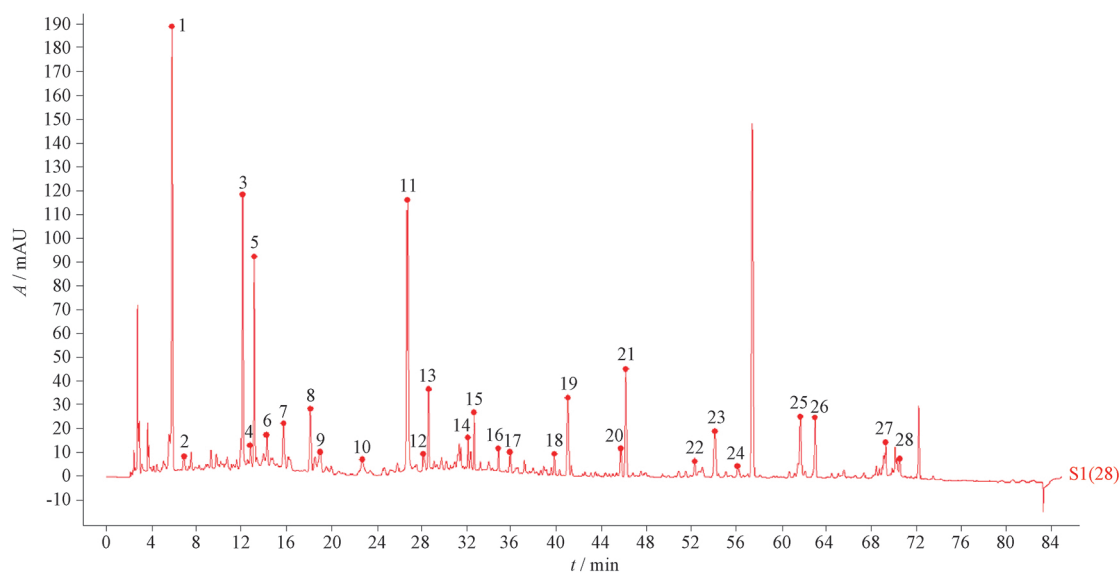


图 1 10 批固精麦斯哈片 HPLC 叠加图谱

Fig. 1 Overlay characteristic chromatogram of 10 batches of Gujing Maisiha tablets



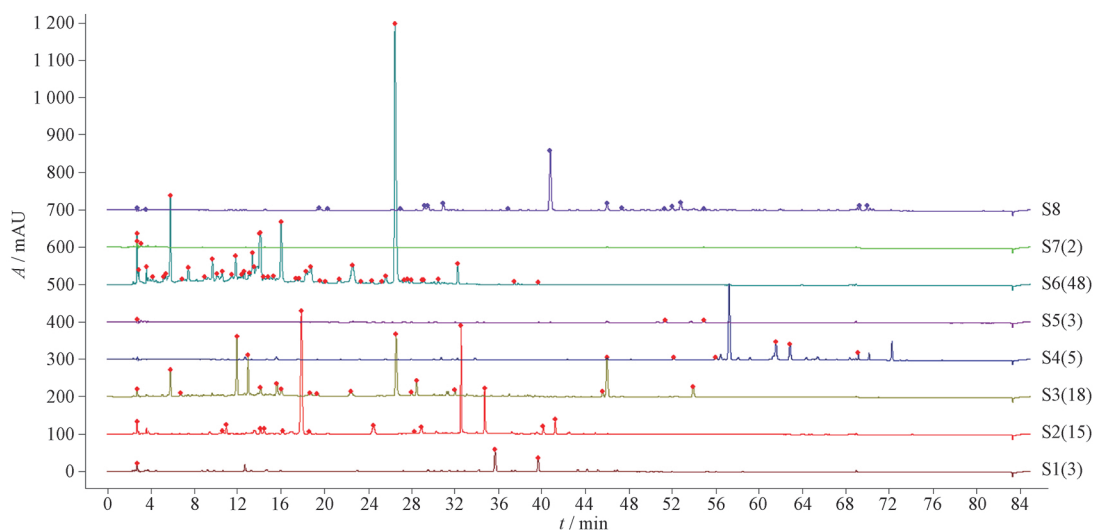
1. 没食子酸(gallic acid) 4. 绿原酸(chlorogenic acid) 8. 苦番红花素(picrocrocin) 12. 异槲皮苷(isoquercitrin) 15. 西红花苷 - I (crocin - I) 16. 西红花苷 - II (crocin - II) 21. 丁香酚(eugenol)

图 2 固精麦斯哈片对照图谱

Fig. 2 HPLC reference chromatogram of Gujing Maisiha tablets

通过对比 10 批样品的测定结果,选定色谱峰较稳定且峰面积较高的 28 个峰作为共有峰,并按照保留时间顺序依次编号为 1~28 号色谱峰。峰 24 和峰 25 之间响应较高的色谱峰,为阿纳其根药材中的成分,10 批阿纳其根药材中,该成分在 171201 批次中基本未检出,在其他 9 批次中有较高响应,批间差异较大,故该色谱峰暂未列入特征图谱共有峰。

**2.3.5 共有峰的指认与归属** 对样品的共有峰在药材中的归属和对照品定位进行研究,按“2.2.1”项下方法制备对照品溶液,按“2.2.3”项下方法制备药材溶液,在“2.1”项色谱条件下进行测定,11 味药材的特征图谱叠加对比结果见图 3,因香附、肉豆蔻、郁金药材均未检测到明显的特征色谱峰,故无该 3 味药材的特征图谱。



S1. 甘松 (Nardostachyos Radix et Rhizoma) S2. 西红花 (Crocus Stigma) S3. 丁香 (Flos Caryophylli) S4. 阿纳其根 (Radix Anacycli Pyrethri)  
S5. 草果 (Tsaoko Fructus) S6. 玫瑰花 (Rosae Rugosae Flos) S7. 小豆蔻 (Fructus Cardamoni) S8. 熏鲁香 (Mastiche)

图 3 制剂中 8 味药材的特征图谱叠加图

Fig. 3 Overlay characteristic chromatogram of medicinal herbs

汇总结果见表 1,11 味药材中有 6 味出现特征峰,1、2、3、5、6、7、11、12、13、14、20、21、23 号峰来自丁香药材,1、3、4、5、6、9、10、11、12、18 号峰来自玫瑰花药材,22、24、25、26、27 号峰来自阿纳其根药材,19、27、28 号峰来自熏鲁香药材,6、8、15、16 号峰来自西红花药材,17、18 号峰来自甘松药材。其中,1、3、5、11、12 号峰为丁香和玫瑰花药材的共有峰,6 号峰为丁香、玫瑰花和西红花药材的共有峰,18 号峰为甘松和玫瑰花药材的共有峰,27 号峰为熏鲁香和阿纳其根药材的共有峰。

为进一步验证各峰的归属,将丁香、玫瑰花、西红花中已知化学成分(现有药典或国家标准收载的)的相应对照品进样分析,经比对指认,共识别了 7 个已知化合物,结果见图 4。没食子酸的保留时间为 5.799 min,为玫瑰花和丁香的特征峰;绿原酸的保留时间为 12.771 min,为玫瑰花的特征峰;苦番红花素的保留时间为 18.129 min,为西红花的特征峰;异槲

皮昔的保留时间为 28.188 min,为丁香和玫瑰花的特征峰;西红花苷 - I 的保留时间为 32.684 min,为西红花的特征峰;西红花苷 - II 的保留时间为 34.862 min,为西红花的特征峰;丁香酚的保留时间为 46.191 min,为丁香的特征峰。

由上述分析可知,对照图谱有 28 个共有峰,包含 7 个已知化合物。其中,丁香酚化学性质稳定,峰形对称,分离度符合要求<sup>[10]</sup>,无拖尾现象且峰面积稳定,因此选择丁香酚作为参照物。以丁香酚峰为参照峰(S 峰),计算各峰的相对保留时间为:0.13(峰 1)、0.15(峰 2)、0.26(峰 3)、0.28(峰 4)、0.28(峰 5)、0.31(峰 6)、0.34(峰 7)、0.39(峰 8)、0.41(峰 9)、0.49(峰 10)、0.58(峰 11)、0.61(峰 12)、0.62(峰 13)、0.70(峰 14)、0.71(峰 15)、0.75(峰 16)、0.78(峰 17)、0.86(峰 18)、0.89(峰 19)、0.99(峰 20)、1.00(S 峰/峰 21)、1.13(峰 22)、1.17(峰 23)、1.22(峰 24)、1.34(峰 25)、1.36(峰 26)、1.50(峰 27)、1.53(峰 28)。

表 1 特征图谱共有峰定位及归属结果

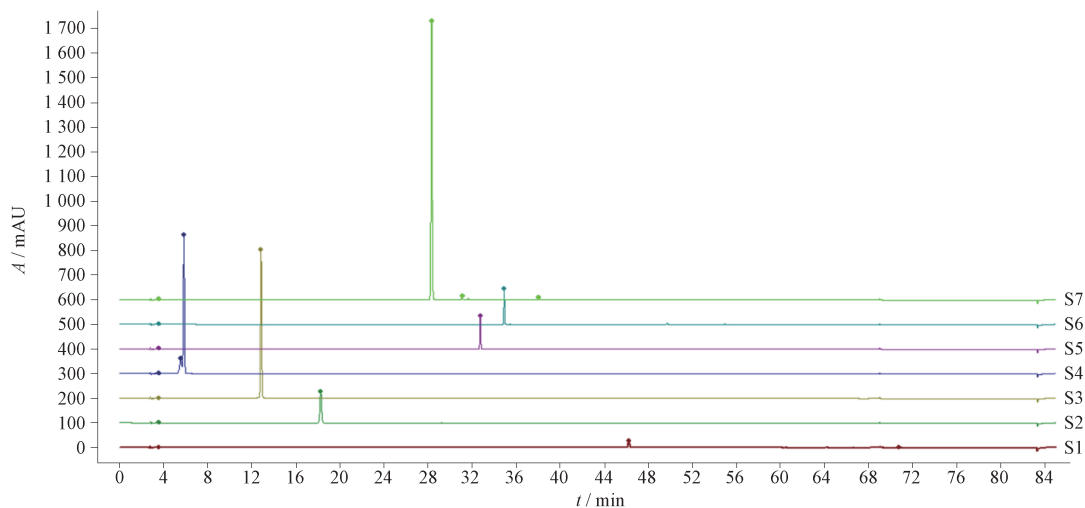
Tab. 1 The results of common peak identification of characteristic chromatogram

峰号(peak No.)	保留时间(retention time)/min	成分(component)	峰归属(attribution of chromatographic peaks)
1	5.799	没食子酸(gallic acid)	玫瑰花(Rosae Rugosae Flos) 丁香(Flos Caryophylli)
2	6.872	/	丁香(Flos Caryophylli)
3	12.082	/	丁香(Flos Caryophylli) 玫瑰花(Rosae Rugosae Flos)
4	12.771	绿原酸(chlorogenic acid)	玫瑰花(Rosae Rugosae Flos)
5	13.133	/	丁香(Flos Caryophylli) 玫瑰花(Rosae Rugosae Flos)
6	14.247	/	丁香(Flos Caryophylli) 玫瑰花(Rosae Rugosae Flos) 西红花(Croci Stigma)
7	15.716	/	丁香(Flos Caryophylli)
8	18.129	苦番红花素(picrocrocine)	西红花(Croci Stigma)
9	18.984	/	玫瑰花(Rosae Rugosae Flos)
10	22.728	/	玫瑰花(Rosae Rugosae Flos)
11	26.753	/	玫瑰花(Rosae Rugosae Flos) 丁香(Flos Caryophylli)
12	28.188	异槲皮苷(isoquercitrin)	丁香(Flos Caryophylli) 玫瑰花(Rosae Rugosae Flos)
13	28.648	/	丁香(Flos Caryophylli)
14	32.161	/	丁香(Flos Caryophylli)
15	32.684	西红花苷 - I (crocin - I)	西红花(Croci Stigma)
16	34.862	西红花苷 - II (crocin - II)	西红花(Croci Stigma)
17	35.891	/	甘松(Nardostachyos Radix et Rhizoma)
18	39.831	/	甘松(Nardostachyos Radix et Rhizoma) 玫瑰花(Rosae Rugosae Flos)
19	41.017	/	熏鲁香(Mastiche)
20	45.744	/	丁香(Flos Caryophylli)
21	46.191	丁香酚(eugenol)	丁香(Flos Caryophylli)
22	52.304	/	阿纳其根(Radix Anacycli Pyrethri)
23	54.104	/	丁香(Flos Caryophylli)
24	56.153	/	阿纳其根(Radix Anacycli Pyrethri)
25	61.729	/	阿纳其根(Radix Anacycli Pyrethri)
26	63.028	/	阿纳其根(Radix Anacycli Pyrethri)
27	69.324	/	熏鲁香(Mastiche) 阿纳其根(Radix Anacycli Pyrethri)
28	70.539	/	熏鲁香(Mastiche)

**2.3.6 相似度分析** 将以上 10 批样品的测定结果与对照图谱结果进行对比分析,并计算相似度,结果见表 2,非共有峰面积占比均 < 11%,相似度结果均 > 0.98,表明 10 批固精麦斯哈片样品间的差异较小,所含成分基本相似。

## 2.4 化学模式识别

**2.4.1 聚类分析** 将 10 批样品所得 28 个共有峰的峰面积导入 SPSS 统计分析软件,采用组间联接法,以平方欧氏距离为区间,进行聚类分析,结果见图 5。当类间距为 15 时,可将 10 批样品分为 2 类,S5、S7、



S1. 丁香酚(eugenol) S2. 苦番红花素(picrocrocine) S3. 绿原酸(chlorogenic acid) S4. 没食子酸(gallic acid) S5. 西红花苷 - I (crocin - I) S6. 西红花苷 - II (crocin - II) S7. 异槲皮苷(isoquercitrin)

图 4 不同对照品色谱图的叠加图

Fig. 4 Overlay HPLC chromatogram of standard substance

表 2 固精麦斯哈片 HPLC 特征图谱相似度评价结果

Tab.2 HPLC characteristic chromatogram similarity evaluation of Gujing Maisiha tablets

样品编号 (sample No.)	批号 (lot No.)	非共有峰面积占比 (non - common peak area ratio)/%	相似度 (similarity)
S1	210101	10.02	0.994
S2	210102	10.35	0.993
S3	210103	10.3	0.994
S4	210901	10.24	0.998
S5	210902	8.31	0.999
S6	201201	9.65	0.999
S7	201202	8.62	0.999
S8	220801	7.16	0.991
S9	220802	1.87	0.986
S10	220803	1.35	0.984

S8、S9 和 S10 聚为一类,其他样品聚为一类;当类间距为 10 时,10 批样品可分为 3 类,S5、S7 和 S8 聚为一类,S9 和 S10 聚为一类,其他样品聚为一类。

**2.4.2 主成分分析** 将 10 批样品中 28 个共有峰的峰面积导入 SPSS 统计分析软件,进行主成分分析,得到相关矩阵的特征值、方差贡献率及因子载荷矩阵,提取特征值 >1 的成分作为主成分(见表 3),这 3 个成分的累积方差贡献率为 93.919%,表明这 3 个成分能够代表 28 个共有峰中 93.919% 的信息,代表性较佳。由主成分得分系数矩阵(表 4)可知,

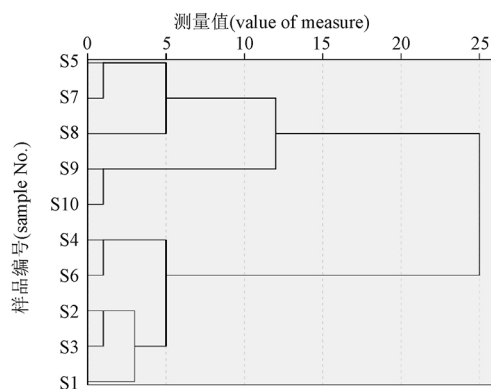


图 5 固精麦斯哈片 10 批样品的聚类分析图

Fig.5 Hierarchical cluster analysis for 10 batches of Gujing Maisiha tablets

色谱峰 19、21、23 在第 2 主成分上具有较高载荷值,色谱峰 12、22 在第 3 主成分上具有较高载荷值,其余色谱峰均都在第 1 主成分上具有较高载荷值,表示各色谱峰与主成分之间的相关性,载荷值越高,相关性越大。

为消除原始数据量纲和数量级对结果的影响,对数据进行标准化处理,以因子载荷值与特征值开平方后的比值计算 3 个主成分的得分系数,将其与标准化后的数据相乘计算各主成分得分,以各主成分对应的方差贡献率为权重,按照公式  $F = 0.75247F_1 + 0.11815F_2 + 0.06857F_3$ ,计算综合得分,结果见表 5,对 F 值进行排序,其结果也是对固精麦斯哈片质量进行综合评价的结果,S1、S2、S3、S4、S6 的排名为 1~5 位,与聚类分析的结果基本一致。

表3 样品主成分特征值及方差贡献率

Tab. 3 Characteristic value and variance contribution rate

成分 (component)	特征值 (characteristic value)	方差贡献率 (variance contribution rate)/%	累积方差贡献率 (cumulative variance contribution rate)/%
1	21.069	75.247	75.247
2	3.308	11.815	87.062
3	1.920	6.857	93.919

表4 固精麦斯哈片主成分得分系数矩阵

Tab. 4 Component matrix of Gujing Maisiha tablets

峰号 (peak No.)	主成分1 (principal component 1)	主成分2 (principal component 2)	主成分3 (principal component 3)
1	0.871	-0.414	0.211
2	0.964	0.257	0.014
3	0.982	0.046	0.130
4	0.962	-0.249	0.094
5	0.980	0.042	0.146
6	0.974	-0.180	0.008
7	0.764	0.325	-0.519
8	0.930	-0.144	0.099
9	0.959	0.191	-0.056
10	0.942	0.109	-0.044
11	0.936	-0.213	-0.109
12	0.307	0.167	-0.658
13	0.994	0.096	-0.021
14	0.988	0.063	0.102
15	0.950	-0.053	0.198
16	0.844	-0.373	0.239
17	0.919	-0.032	-0.072
18	0.921	-0.356	0.135
19	-0.621	0.683	0.284
20	0.991	0.066	0.003
21	-0.299	0.921	0.215
22	-0.079	-0.037	0.834
23	0.383	0.862	0.314
24	0.990	0.124	0.011
25	0.993	0.101	0.016
26	0.987	0.132	-0.040
27	0.914	0.338	-0.014
28	0.835	0.470	-0.216

表5 固精麦斯哈片样品主成分综合得分及排序

Tab. 5 Rank of principal component scores and comprehensive scores

编号(No.)	F1	F2	F3	F	排序(ranking)
S1	0.577 64	-0.467 60	-2.324 70	0.220 01	5
S2	0.486 24	-1.329 47	0.183 05	0.221 36	4
S3	0.644 55	-0.959 54	0.200 22	0.385 36	3
S4	1.037 94	0.736 99	0.846 20	0.926 12	1
S5	0.025 31	-0.318 48	-0.148 19	-0.028 74	7
S6	0.891 14	0.764 85	1.116 72	0.837 50	2
S7	-0.119 38	-0.474 57	0.658 61	-0.100 74	8
S8	-0.058 61	2.054 92	-0.976 73	0.131 71	6
S9	-1.580 18	0.452 31	0.381 13	-1.109 46	9
S10	-1.904 65	-0.459 42	0.063 68	-1.483 11	10

2.4.3 正交偏最小二乘判别分析 以10批固精麦斯哈片共有峰的峰面积作为变量,导入SIMCA统计分析软件,进行正交偏最小二乘判别分析。得分矩阵图见图6,模型参数 $R^2 X$ 为1、 $R^2 Y$ 为1、 $Q^2$ 为0.874,矩阵良好,S1、S2、S3、S4、S6被分为一组,分类结果与聚类分析和主成分分析的结果相一致。

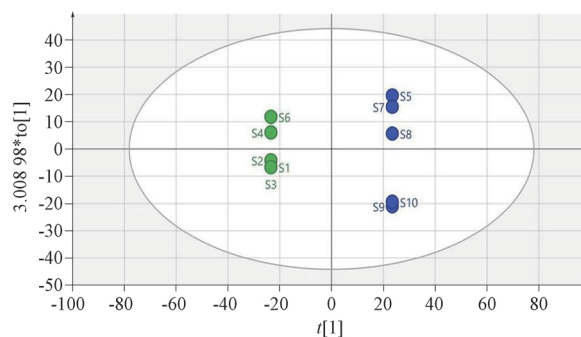


图6 固精麦斯哈片正交偏最小二乘判别分析得分矩阵图

Fig. 6 Score matrix diagram of PLS-DA

综合上述结果,10批样品基本会被分为2组,引起组间差异的成分可用变量特征系数(VIP)进行筛选,由图7可见,以 $VIP > 1$ 作为标准,筛选得到1、11、3、5、19号峰可能为差异组分。由图8可见,1、11、3、5、19号峰距离原点较远,对样品的分组贡献较大。

正交偏最小二乘判别分析筛选出的差异性组分为1、11、3、5、19号峰,前4个均为玫瑰花和丁香的共有成分,其中1号峰为没食子酸,19号峰为熏鲁香中的成分,推测引起产品批间差异的成分可能主要来自于药材丁香、玫瑰花和熏鲁香。

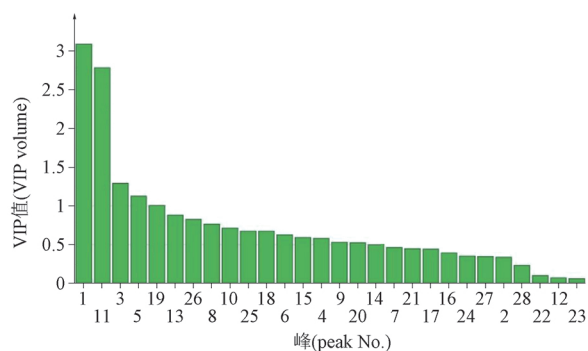


图7 固精麦斯哈片正交偏最小二乘判别分析VIP值图

Fig. 7 VIP value of PLS-DA

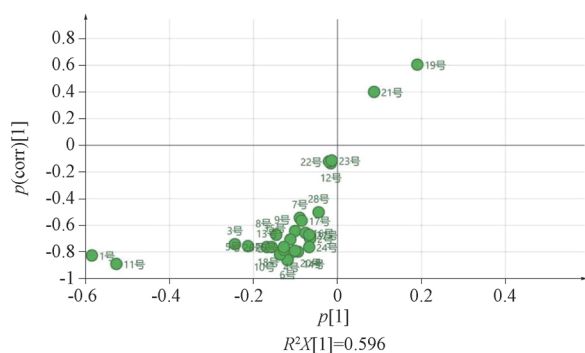


图8 正交偏最小二乘判别分析载荷散点图

Fig. 8 Load scatter plot of PLS-DA

### 3 讨论

#### 3.1 检测方法的选择

固精麦斯哈片中各味药材所含成分大部分具有紫外吸收<sup>[11-14]</sup>,结合制剂的制备工艺,选择HPLC法建立固精麦斯哈片的特征图谱,并使用DAD检测器获得各特征峰的紫外光谱信息,进一步强化该检测方法的专属性。通过对药材及样品的检测,发现主要物质群具有良好的传递性和相关性,归属清晰;从色谱峰的强度和个数进行分析,对于特征图谱贡献较大的药材有丁香、玫瑰花、西红花、阿纳其根等,所反映的化学成分信息较为全面;小豆蔻、草果等主要含挥发油成分<sup>[15-16]</sup>,不具备HPLC-DAD检测的结构特点,在该条件下未检出。

#### 3.2 化学模式分析的选择

主成分分析和偏最小二乘判别等统计学方法,能加强对特征图谱规律的分析,进一步挖掘可用信息,可利用相对保留时间定位或者相对峰面积的规定,进行药材真伪鉴定,以及生品和炮制品的区分<sup>[17-18]</sup>;还可结合文献研究及网络药理学分析进行潜在的质量标志物预测<sup>[19]</sup>。本研究通过化学模式的

分析,初步识别可能引起产品质量差异的成分,相关药材的采收及加工过程应该引起重视,这在保证产品质量稳定方面具有指导意义。

#### 3.3 提取溶剂的选择

中药具有质量整体性与功效特异性,发挥药效是化学物质组群的综合生物效应,这就导致药效物质基础难以充分阐明,与药效属性相关的质量标志物难以确定,反映整体药效的质量控制方法难以建立<sup>[20]</sup>。本研究针对提取溶剂的选择,是从化合物整体的提取情况进行考察,使用HPLC对固精麦斯哈片的特征图谱前处理方法进行优化,以色谱峰的数量和整体分离情况作为评价指标,考察不同提取溶剂、提取方式、提取时间对结果的影响,确定供试品溶液制备方法;对比了50%乙醇、70%乙醇、甲醇、50%甲醇、70%甲醇5种提取溶剂,结果显示采用70%甲醇提取后样品的色谱峰个数最多,故确定提取溶剂为70%甲醇;对比超声和回流2种提取方式,发现测定结果基本一致,故选择超声方式进行提取;对比10、20、30、40 min 4种超声时间,测得结果无明显差异,均能提取完全。这虽然是目前常用的评价方法,但与产品功能主治即药效之间的关联程度尚不明确。在建立特征图谱方法时,提取溶剂的选择非常关键,需整合多学科技术方法进一步深入研究。

#### 3.4 小结

本次建立的固精麦斯哈片HPLC特征图谱,方法操作简单,重复性好。对10批样品的共有峰进行了部分峰的定位和药材的归属,指认了没食子酸、苦番红花素等7个成分,通过相似度对比,样品相关性良好,但通过化学模式分析初步判定,不同批次样品组间存在质量差异。本研究为与药效属性相关的质量标志物预测提供研究思路,基于有效性开展功效关联物质的系统辨识与确认,为作用机制的研究提供借鉴,也为质量控制提供更全面的参考。

#### 参考文献

- [1] 柳斌杰, 鄯书林. 阿克萨拉依(白色宫殿)(维吾尔文)[J]. 乌鲁木齐:新疆人民出版社, 2015:760  
LIU BJ, WU SL. Aqsarai[J]. Urumqi: Xinjiang People's Health Publishing House, 2015:760
- [2] 宋国宏, 李华贵, 冯连成, 等. 固精麦斯哈片治疗早泄的临床观察[J]. 现代中西医结合杂志, 2009, 18(21):2555  
SONG GH, LI HG, FENG LC, et al. Clinical observation on treatment of premature ejaculation with Gujing Maisiha tablets[J].

- Mod J Integr Tradit Chin West Med, 2009, 18(21):2555
- [ 3 ] 王轶, 周青松, 周波, 等. 固精麦斯哈片联合天然维生素 E 治疗特发性弱精子症的临床研究[J]. 中华男科学杂志, 2017, 23(12):1089  
WANG Y, ZHOU QS, ZHOU B, *et al.* Gujing Maisiha tablets combined with natural vitamin E for the treatment of idiopathic asthenospermia[J]. Natl J Androl, 2017, 23(12):1089
- [ 4 ] 刘勇民. 维吾尔药志[M]. 乌鲁木齐:新疆科技卫生出版社, 1999:160  
LIU YM. Uygur Medical Records[M]. Urumqi: Xinjiang Science and Technology Health Publishing House, 1999:160
- [ 5 ] 赵启明, 江少波. 固精麦斯哈片联合舍曲林治疗早泄的临床疗效观察[J]. 中国男科学杂志, 2019, 33(6):61  
ZHAO QM, JIANG SB. Clinical efficacy of Gujing Maisiha tablets combined with sertraline in the treatment of premature ejaculation [J]. Natl J Androl, 2019, 33(6):61
- [ 6 ] 买吾兰江·买提努尔, 董婷霞, 詹华强, 等. 甘松药材高效液相色谱指纹图谱及甘松新酮含量测定[J]. 医药导报, 2017, 36(11):1298  
Mai - Wu - Lan - Jiang · Mai - Ti - Nu - Er, DONG TX, ZHAN HQ, *et al.* Analysis of HPLC fingerprints and determination of nardosinone of Nardostachyos Radix et Rhizoma from *Nardostachys jatamansi* DC[J]. Her Med, 2017, 36(11):1298
- [ 7 ] 赵敏, 姜艳玲, 王莉莉, 等. GC 内标法测定固精麦斯哈片中丁香酚含量的研究[J]. 精细化工中间体, 2021, 51(4):73  
ZHAO M, JIANG YL, WANG LL, *et al.* Determination of eugenol in Gujing Maisiha tablets by GC internal standard method[J]. Fine Chem Intermed, 2021, 51(4):73
- [ 8 ] 彭桂, 刘宣麟. 固精买斯哈片质量标准的研究[J]. 新疆医学, 2006(3):178  
PENG G, LIU XL. Study on quality standard of Gujing Maisiha tablets[J]. Xinjiang Med J, 2006(3):178
- [ 9 ] 中华人民共和国药典 2020 年版. 一部[S]. 2020: 4, 87, 134, 141  
ChP 2020. Vol I [S]. 2020: 4, 87, 134, 141
- [ 10 ] 谭皎章, 夏建成, 周玲珍, 等. 熄风活络胶囊 HPLC 特征图谱建立及 11 个成分含量测定[J]. 药物分析杂志, 2024, 44(6):938  
TAN JZ, XIA JC, ZHOU HL, *et al.* Establishment of HPLC characteristic chromatogram for Xifeng Huoluo capsules and simultaneous determination of eleven constituents[J]. Chin J Pharm Anal, 2024, 44(6):938
- [ 11 ] 符映均, 姜晓燕, 张硕, 等. 玫瑰花 HPLC 指纹图谱及质量评价研究[J]. 现代中药研究与实践, 2022, 36(6):49  
FU YJ, JIANG XY, ZHANG S, *et al.* Study on HPLC fingerprints and quality evaluation of Rosae Rugosae Flos[J]. Res Pract Chin Med, 2022, 36(6):49
- [ 12 ] 王毅, 张红梅. 阿纳其根化学成分和药理研究进展[J]. 中国民族医药杂志, 2020, 26(7):44  
WANG Y, ZHANG HM. Advance in research on chemical constituents and pharmacological effects of *Anacyclus pyrethrum* (L.) DC. Roots[J]. J Med Pharm Chin Minorit Ethnic Med, 2020, 26(7):44
- [ 13 ] 牛妍, 张婷婷, 崔丽阳, 等. 基于超高效液相色谱质谱联用仪的西红花有效成分分析研究[J]. 天津理工大学学报, 2022, 38(2):34  
NIU Y, ZHANG TT, CUI LY, *et al.* Analysis and research of the effective components of saffron based on UPLC - MS[J]. J Tianjin Univ Technol, 2022, 38(2):34
- [ 14 ] 但春, 焦威. 丁香的化学成分研究[J]. 中药材, 2018, 41(5):1108  
DAN C, JIAO W. Chemical constituents of Caryophylli Flos[J]. J Chin Med Mater, 2018, 41(5):1108
- [ 15 ] 尚明越, 王嘉乐, 代国娜, 等. 草果化学成分、药理作用、临床应用研究进展及质量标志物预测分析[J]. 中草药, 2022, 53(10):3251  
SHANG MY, WANG JL, DAI GN, *et al.* A review on chemical constituents, pharmacological effects, and clinical applications of *Tsaoko Fructus* and predictive analysis of its Q - markers [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2022, 53(10):3251
- [ 16 ] 吴孟华, 张伟, 邓庆华. 小豆蔻的化学成分与药理作用研究进展[J]. 中药材, 2014, 37(5):906  
WU MH, ZHANG W, DENG QH. Research progress on chemical constituents and biological activities of cardamom[J]. J Chin Med Mater, 2014, 37(5):906
- [ 17 ] 赵剑锋, 张雪, 祁进, 等. 指纹图谱与特征图谱技术在中药配方颗粒国家标准中的应用回顾性分析[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(9):1278  
ZHAO JF, ZHANG X, QI J, *et al.* Retrospective analysis on the application of fingerprint and characteristic chromatography technology in the national standards of traditional Chinese medicine dispensing granules[J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2023, 40(9):1278
- [ 18 ] 齐大明, 董诚明, 刘天亮, 等. 基于指纹图谱对金银花与山银花的区分及各品种金银花质量评价[J]. 中草药, 2023, 54(6):1946  
QI DM, DONG CM, LIU TL, *et al.* Identification of *Lonicerae Japonicae Flos* and *Lonicerae Flos* based on fingerprint and the quality evaluation of different varieties of *Lonicerae Japonicae Flos*[J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2023, 54(6):1946
- [ 19 ] 张淑娟, 张育贵, 李东辉, 等. 基于网络药理学及指纹图谱的黄芪质量标志物预测[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(11):2691  
ZHANG SJ, ZHANG YG, LI DH, *et al.* Prediction of Q - markers of *Astragali Radix* based on network pharmacology and fingerprint[J]. China J Chin Mater Med, 2021, 46(11):2691
- [ 20 ] 李天娇, 包永睿, 王帅, 等. 中药质量控制与评价创新方法研究进展及应用[J]. 中草药, 2022, 53(20):6319  
LI TJ, BAO YR, WANG S, *et al.* Research progress and application of innovative methods for quality control and evaluation of traditional Chinese medicine[J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2022, 53(20):6319

(本文于 2024 年 9 月 3 日修改回)