基于指纹图谱、多成分含量测定与化学计量学分析的黄柏药材质量评价Δ

廖华军*，苏菁菁，陈　思，夏玮洁，潘　馨#（福建中医药大学药学院，福州　350122）

中图分类号　R284；R917　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2026）20-2700-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2026.20.12

摘　要　目的　建立黄柏药材的高效液相色谱（HPLC）指纹图谱及含量测定方法，同时结合化学计量学分析评价黄柏药材的质量。**方法**　采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012版）》建立30批黄柏药材的HPLC指纹图谱并进行相似度评价和共有峰指认。采用同样的HPLC法测定盐酸黄柏碱、木兰花碱、绿原酸、5-*O*-阿魏酰奎宁酸、4-*O*-阿魏酰奎宁酸、3-*O*-阿魏酰奎宁酸、盐酸药根碱、盐酸小檗碱的含量；以上述8种成分的含量为变量进行层次聚类分析（HCA）、主成分分析（PCA）和偏最小二乘-判别分析（PLS-DA）。**结果**　30批样品的HPLC指纹图谱共标定16个共有峰，指认出了其中8个共有峰，分别为盐酸黄柏碱、木兰花碱、绿原酸、5-*O*-阿魏酰奎宁酸、4-*O*-阿魏酰奎宁酸、3-*O*-阿魏酰奎宁酸、盐酸药根碱、盐酸小檗碱；30批样品的相似度为0.989～1.000。含量测定结果显示，盐酸黄柏碱等8个成分的含量分别为10.108～22.745、2.598～5.529、6.250～13.942、4.956～12.433、10.895～27.384、43.248～78.924、0.428～1.154、81.827～153.066 mg/g。HCA结果显示，30批样品聚为3类，S1～S10为一类，S11～S23为一类，S24～S30为一类；PCA结果显示，四川产区的10批样品（编号S1～S10）的综合得分排前10位；PLS-DA结果显示，盐酸小檗碱、3-*O*-阿魏酰奎宁酸、绿原酸、盐酸黄柏碱的变量重要性投影值均大于1。**结论**　本研究建立的HPLC指纹图谱和含量测定方法稳定、可靠，基于多成分含量数据的化学计量学分析可用于黄柏药材的质量评价；盐酸小檗碱、盐酸黄柏碱、3-*O*-阿魏酰奎宁酸可能是影响黄柏药材整体质量的差异标志物。

关键词　黄柏；含量测定；指纹图谱；化学计量学分析；质量评价

Quality evaluation of *Phellodendron chinensis* based on fingerprint, multi-component content determination and chemometrics analysis

LIAO Huajun, SU Jingjing, CHEN Si, XIA Yujie, PAN Xin (School of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE To establish a high-performance liquid chromatography (HPLC) fingerprint and content determination method for *Phellodendron chinensis*, and to evaluate its quality combined with chemometrics analysis. **METHODS** The HPLC fingerprints of 30 batches of *P. chinensis* were established by the *Similarity Evaluation System for Chromatographic* Fingerprint of Traditional Chinese Medicine (2012 Edition), and similarity evaluation and common peak identification were carried out. The contents of phellodendrine hydrochloride, magnoflorine, chlorogenic acid, 5-*O*-feruloylquinic acid, 4-*O*-feruloylquinic acid, 3-*O*-feruloylquinic acid, jatrorrhizine hydrochloride, and berberine hydrochloride were determined by the same HPLC method. Hierarchical cluster analysis (HCA), principal component analysis (PCA), and partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA) were performed using the contents of the above eight components as variables. **RESULTS** A total of 16 common peaks were identified in the HPLC fingerprints of 30 batches of samples, and 8 common peaks were identified, including phellodendrine hydrochloride, magnoflorine, chlorogenic acid, 5-*O*-feruloylquinic acid, 4-*O*-feruloylquinic acid, 3-*O*-feruloylquinic acid, jatrorrhizine hydrochloride, and berberine hydrochloride. The similarity of 30 batches of samples ranged from 0.989 to 1.000. The results of content determination showed that the contents of eight components such as phellodendrine hydrochloride were 10.108-22.745, 2.598-5.529, 6.250-13.942, 4.956-12.433, 10.895-27.384, 43.248-78.924, 0.428-1.154, 81.827-153.066 mg/g, respectively. The HCA results showed that 30 batches of samples were clustered into 3 categories: S1-S10 as one category, S11-S23 as one category, and S24-S30 as one category. The PCA results showed that the comprehensive scores of 10 batches of samples from the Sichuan production area (S1-S10) ranked among the top 10. The PLS-DA results showed that the variable importance in projection values of berberine hydrochloride, 3-*O*-feruloylquinic acid, chlorogenic acid and phellodendrine hydrochloride were greater than 1. **CONCLUSIONS** The HPLC fingerprint and content determination methods established in this study are

Δ **基金项目** 福建省科技计划项目-社会发展高校产学合作项目（No.2023Y4011）

＊ **第一作者** 副教授，博士。研究方向：中药药效物质基础及其作用机制。E-mail：lhj2002123@126.com

\# **通信作者** 研究员。研究方向：中药制剂及其质量标准研究。E-mail：798558956@qq.com

stable and reliable. Chemometric analysis based on multi-component content data can be used for the quality evaluation of *P. chinensis*. Berberine hydrochloride, phellodendrine hydrochloride, and 3-*O*-feruloylquinic acid may be the differential markers affecting the overall quality of *P. chinensis*.

KEYWORDS *Phellodendron chinensis*; content determination; fingerprint; chemometrics analysis; quality evaluation

黄柏为芸香科植物黄皮树 *Phellodendron chinense* Schneid. 的干燥树皮，具有清热燥湿、泻火除蒸、解毒疗疮的功效，可用于湿热泻痢、黄疸尿赤、带下阴痒、湿疹湿疮等症的治疗[1]。黄柏含有生物碱类、酚酸类等成分，具有抗炎、抗氧化、抗菌、抗肿瘤、降血糖等功效[2]，其中酚酸类成分绿原酸、3-*O*-阿魏酰奎宁酸、4-*O*-阿魏酰奎宁酸、5-*O*-阿魏酰奎宁酸具有抗炎、抗病毒、抗菌、抗氧化等药理作用[3－5]；生物碱类成分盐酸小檗碱、盐酸黄柏碱、盐酸药根碱、木兰花碱等具有抗炎、降糖、抗氧化等作用[6－7]。本课题组前期研究发现，3-*O*-阿魏酰奎宁酸、5-*O*-阿魏酰奎宁酸能强效清除自由基，抑制高糖诱导的肿瘤坏死因子α、白细胞介素6释放，减轻视网膜血管渗漏；盐酸小檗碱、盐酸黄柏碱及酚酸类成分可协同抗氧化、抗炎、保护视网膜细胞，提示黄柏可能通过多成分、多靶点协同发挥改善糖尿病眼底损伤的作用。

黄柏药材质量标准现收载于2025年版《中国药典》（一部）。但该标准仅对黄柏药材中的盐酸小檗碱及盐酸黄柏碱进行检测[1]，检测指标较单一，且未覆盖酚酸类成分及与降糖护眼活性密切相关的成分，难以全面评价黄柏药材质量。指纹图谱可从整体层面反映药材中化学物质特征，适用于中药多组分的整体质量表征[8]。化学计量学分析可解析多维色谱数据，挖掘样品间潜在质量差异，实现对药材质量的客观分类与评价[9]。本研究采用高效液相色谱（HPLC）法建立黄柏药材的指纹图谱，并同法测定其中盐酸黄柏碱、木兰花碱、绿原酸、5-*O*-阿魏酰奎宁酸、4-*O*-阿魏酰奎宁酸、3-*O*-阿魏酰奎宁酸、盐酸药根碱、盐酸小檗碱的含量；同时，以这8个成分含量为变量，采用化学计量学分析评估黄柏药材的整体质量，旨在为其质量评价提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括LC-20AT型HPLC仪（日本Shimadzu公司）、KQ-500DE型数控超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）、AR224CN型万分之一电子天平[奥豪斯仪器（常州）有限公司]、Milli-Q超纯水系统（美国Millipore公司）等。

1.2 主要药品与试剂

盐酸黄柏碱（批号AZCC1405，纯度≥98%）、木兰花碱（批号AFBJ1903，纯度≥98%）、5-*O*-阿魏酰奎宁酸（批号AZCE1609，纯度≥98%）、盐酸药根碱（批号AFCH1451，纯度≥98%）、3-*O*-阿魏酰奎宁酸（批号AZCE2315，纯度≥98%）、盐酸小檗碱（批号AFBH0801，纯度≥98%）、4-*O*-阿魏酰奎宁酸（批号AZCE0708，纯度≥98%）对照品均购自成都埃法生物科技有限公司；绿原酸对照品（批号753-200111，纯度≥98%）购自上海源叶生物科技有限公司；甲醇、乙腈为色谱纯，磷酸及其余试剂均为分析纯，水为超纯水。

30批黄柏药材经福建中医药大学药学院黄泽豪教授鉴定为芸香科植物黄皮树 *P. chinense* Schneid. 的干燥树皮，所有样品均为生长10～15年的生品，均采用趁鲜刮除粗皮后自然晒干的传统工艺加工。黄柏药材样品信息见表1。

表1 30批黄柏药材样品信息

编号	产地	编号	产地
S1	四川省雅安市荥经县龙苍沟镇	S16	云南省昭通市大关县木杆镇
S2	四川省雅安市汉源县皇木镇	S17	云南省昭通市永善县码口镇
S3	四川省乐山市峨边彝族自治县黑竹沟镇	S18	云南省保山市龙陵县镇安镇
S4	四川省乐山市马边彝族自治县沙腔乡	S19	云南省保山市昌宁县温泉镇
S5	四川省雅安市天全县喇叭河镇	S20	云南省曲靖市会泽县大海乡
S6	四川省雅安市芦山县大川镇	S21	广西壮族自治区桂林市龙胜各族自治县泗水乡
S7	四川省乐山市金口河区永胜乡	S22	广西壮族自治区桂林市资源县两水苗族乡
S8	四川省眉山市洪雅县瓦屋山镇	S23	广西壮族自治区柳州市融水苗族自治县杆洞乡
S9	四川省巴中市通江县诺水河镇	S24	广西壮族自治区河池市天峨县六排镇
S10	四川省达州市万源市竹峪镇	S25	广西壮族自治区百色市隆林各族自治县介廷乡
S11	贵州省遵义市桐梓县狮溪镇	S26	湖北省十堰市房县野人谷镇
S12	贵州省遵义市正安县庙塘镇	S27	湖北省十堰市郧阳区鲍峡镇
S13	贵州省安顺市西秀区旧州镇	S28	湖北省宜昌市长阳县资丘镇
S14	贵州省安顺市镇宁县江龙镇	S29	湖北省宜昌市五峰县采花乡
S15	贵州省毕节市纳雍县化作乡	S30	湖北省恩施州利川市谋道镇

2 方法与结果

2.1 色谱条件

以Diamonsil C_{18}（4.6 mm×250 mm，5 μm）为色谱柱，以0.1%磷酸溶液（A）-乙腈（B）为流动相进行梯度洗脱（0～6 min，12%B；6～10 min，12%B→20%B；10～15 min，20%B；15～25 min，20%B→25%B；25～35 min，25%B→40%B；35～45 min，40%B→55%B；45～50 min，55%B→60%B；50～55 min，60%B→70%B）；检测波长为285 nm（0～9 min，盐酸黄柏碱）、230 nm（9～10.5 min，木兰花碱、绿原酸）、330 nm（10.5～18 min，5-*O*-阿魏酰奎宁酸、4-*O*-阿魏酰奎宁酸、3-*O*-阿魏酰奎宁酸）、230 nm（18～55 min，盐酸药根碱、盐酸小檗碱）；流速为1.0 mL/min；柱温为35 ℃；进样量为10 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 供试品溶液

取黄柏药材，粉碎，过三号筛，取粉末约0.5 g，精密称定，置于100 mL具塞锥形瓶中，加入80%甲醇-0.1%

磷酸溶液（4∶1，*V*/*V*；下同）50 mL，称重，超声（功率250 W，频率40 kHz）提取30 min，取出后静置，冷却至室温，再次称重，用80%甲醇-0.1%磷酸溶液补足失重，充分振荡摇匀，滤过，取续滤液，即得供试品溶液。

2.2.2　混合对照品溶液

精密称取盐酸黄柏碱、木兰花碱、绿原酸、5-*O*-阿魏酰奎宁酸、4-*O*-阿魏酰奎宁酸、3-*O*-阿魏酰奎宁酸、盐酸药根碱、盐酸小檗碱对照品适量，加80%甲醇-0.1%磷酸溶液，制成上述成分质量浓度分别为534.00、475.20、436.00、538.80、372.40、303.60、190.80、686.00 μg/mL的混合对照品储备液。精密量取上述混合对照品储备液1 mL，置于5 mL容量瓶中，加80%甲醇-0.1%磷酸溶液稀释至刻度，摇匀，即得上述成分质量浓度分别为106.80、95.04、87.20、107.76、74.48、60.72、38.16、137.20 μg/mL的混合对照品溶液。

2.3　黄柏药材的指纹图谱建立及相似度评价

2.3.1　精密度试验

取“2.2.1”项下供试品溶液（编号S1），按“2.1”项下色谱条件连续进样6次，以盐酸小檗碱（13号峰）为参照峰，计算得到各共有峰相对保留时间的RSD均不高于2.81%（*n*=6），相对峰面积的RSD均不高于2.81%（*n*=6），表明方法精密度良好。

2.3.2　重复性试验

取黄柏药材粉末（编号S1），共6份，按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件进样，以盐酸小檗碱（13号峰）为参照峰，计算得到各共有峰相对保留时间的RSD均不高于2.50%（*n*=6），相对峰面积的RSD均不高于2.86%（*n*=6），表明方法重复性良好。

2.3.3　稳定性试验

取“2.2.1”项下供试品溶液（编号S1），分别在室温下避光放置0、2、4、8、12、24 h时，按“2.1”项下色谱条件进样测定，以盐酸小檗碱（13号峰）为参照峰，计算得到各共有峰相对保留时间的RSD均不高于1.29%（*n*=6），相对峰面积的RSD均不高于2.57%（*n*=6），表明供试品在室温下避光放置24 h内稳定性良好。

2.3.4　指纹图谱及相似度评价

取“2.2.1”项下供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件进样，将所得数据导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012版）》，以色谱峰数量完整、分离度良好的S1号样品为参照，时间窗宽度设置为0.1，经多点校正后进行Mark峰匹配，采用中位数法生成30批黄柏药材的叠加指纹图谱和对照指纹图谱（R）。结果（图1）显示，共从30批黄柏药材中标定16个共有峰；30批黄柏药材与对照指纹图谱的相似度为0.989～1.000，表明不同批次的黄柏药材质量较为稳定。

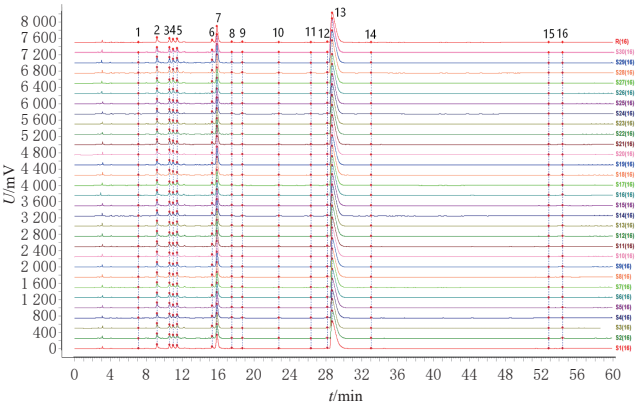
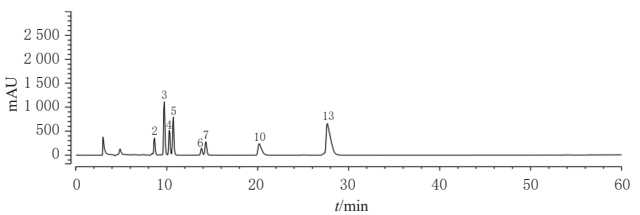


图1　30批黄柏药材的HPLC叠加指纹图谱和对照指纹图谱

2.3.5　共有峰指认

通过与混合对照品溶液（图2）比对，共指认了8个色谱峰，分别为盐酸黄柏碱（2号峰）、木兰花碱（3号峰）、绿原酸（4号峰）、5-*O*-阿魏酰奎宁酸（5号峰）、4-*O*-阿魏酰奎宁酸（6号峰）、3-*O*-阿魏酰奎宁酸（7号峰）、盐酸药根碱（10号峰）、盐酸小檗碱（13号峰）。



2：盐酸黄柏碱；3：木兰花碱；4：绿原酸；5：5-*O*-阿魏酰奎宁酸；6：4-*O*-阿魏酰奎宁酸；7：3-*O*-阿魏酰奎宁酸；10：盐酸药根碱；13：盐酸小檗碱。

图2　混合对照品溶液的HPLC色谱图

2.4　盐酸黄柏碱等8种成分的含量测定

2.4.1　线性关系考察

分别精密量取“2.2.2”项下混合对照品储备液适量，以80%甲醇-0.1%磷酸溶液为溶剂，分别稀释10、20、30、40、50倍，即得系列质量浓度的混合对照品标准溶液。取上述标准溶液和混合对照品储备液，按“2.1”项下色谱条件进样测定，记录峰面积。以各成分质量浓度为横坐标（*X*）、峰面积为纵坐标（*Y*）进行线性回归。结果见表2。

表2　盐酸黄柏碱等8个成分的回归方程与线性范围

成分	回归方程	*r*	线性范围/(μg/mL)
盐酸黄柏碱	*Y*=4.862 6*X*−1.874 6	0.999 8	10.68～534.00
木兰花碱	*Y*=29.057 0*X*−3.014 6	0.999 7	9.50～475.20
绿原酸	*Y*=12.311 0*X*−102.250 0	0.999 3	8.72～436.00
5-*O*-阿魏酰奎宁酸	*Y*=21.872 0*X*−170.790 0	0.999 6	10.78～538.80
4-*O*-阿魏酰奎宁酸	*Y*=7.574 0*X*−53.316 0	0.999 1	7.45～372.40
3-*O*-阿魏酰奎宁酸	*Y*=20.089 0*X*−103.980 0	0.999 1	6.07～303.60
盐酸药根碱	*Y*=35.839 0*X*−132.240 0	0.999 0	3.82～190.80
盐酸小檗碱	*Y*=29.073 0*X*+223.400 0	0.999 1	13.72～686.00

2.4.2　精密度试验

取“2.2.1”项下供试品溶液（编号S1），按“2.1”项下色谱条件连续进样6次，记录峰面积。结果显示，盐酸黄柏碱、木兰花碱、绿原酸、5-*O*-阿魏酰奎宁酸、4-*O*-阿魏酰奎宁酸、3-*O*-阿魏酰奎宁酸、盐酸药根碱、盐酸小檗碱峰面积的RSD分别为1.21%、2.65%、0.73%、2.81%、2.71%、1.34%、2.72%、1.49%（n=6），表明方法精密度良好。

2.4.3　重复性试验

取黄柏药材粉末（编号S1），共6份，按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件进样测定，记录峰面积并按外标法计算样品含量。结果显示，盐酸黄柏碱、木兰花碱、绿原酸、5-*O*-阿魏酰奎宁酸、4-*O*-阿魏酰奎宁酸、3-*O*-阿魏酰奎宁酸、盐酸药根碱、盐酸小檗碱含量的RSD分别为0.53%、0.62%、2.17%、1.50%、2.33%、1.53%、2.56%、2.86%（n=6），表明方法重复性较好。

2.4.4　稳定性试验

取“2.2.1”项下供试品溶液（编号S1），分别于制备后在室温下避光放置0、2、4、8、12、24 h时，按“2.1”项下色谱条件进样，记录峰面积。结果显示，盐酸黄柏碱、木兰花碱、绿原酸、5-*O*-阿魏酰奎宁酸、4-*O*-阿魏酰奎宁酸、3-*O*-阿魏酰奎宁酸、盐酸药根碱、盐酸小檗碱峰面积的RSD分别为2.18%、1.34%、1.56%、1.36%、1.30%、0.87%、2.57%、0.87%（n=6），表明供试品溶液在室温下避光放置24 h内稳定性良好。

2.4.5　加样回收率试验

取已知各成分含量的黄柏药材粉末（编号S1），共6份，每份约0.25 g，精密称定，置于100 mL具塞锥形瓶中，精密加入盐酸黄柏碱、木兰花碱、绿原酸、5-*O*-阿魏酰奎宁酸、4-*O*-阿魏酰奎宁酸、3-*O*-阿魏酰奎宁酸、盐酸药根碱、盐酸小檗碱对照品适量，按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件进样测定并计算加样回收率。结果显示，盐酸黄柏碱、木兰花碱、绿原酸、5-*O*-阿魏酰奎宁酸、4-*O*-阿魏酰奎宁酸、3-*O*-阿魏酰奎宁酸、盐酸药根碱、盐酸小檗碱的平均加样回收率分别为100.36%、101.07%、101.10%、98.33%、100.70%、99.00%、101.63%、100.75%，RSD分别为0.36%、0.47%、0.42%、0.42%、0.46%、0.25%、0.98%、0.42%（n=6）。

2.4.6　30批样品的含量测定

取30批黄柏药材，按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件进样测定，记录峰面积并按外标法计算含量，每批样品测2次，取平均值。结果见表3。

表3　盐酸黄柏碱等8个成分的含量测定结果（n=2，mg/g）

成分	盐酸黄柏碱	木兰花碱	绿原酸	5-*O*-阿魏酰奎宁酸	4-*O*-阿魏酰奎宁酸	3-*O*-阿魏酰奎宁酸	盐酸药根碱	盐酸小檗碱
S1	20.370	3.534	13.942	8.262	18.212	66.587	0.986	152.114
S2	22.572	5.529	12.055	12.410	24.488	78.755	1.101	152.097
S3	22.745	5.435	9.723	12.433	24.530	78.924	1.134	152.898
S4	21.785	5.222	11.245	11.812	23.095	75.363	1.154	146.328
S5	21.712	4.927	10.383	11.430	22.301	75.015	1.082	144.438
S6	21.084	3.941	8.716	9.347	25.094	60.692	0.878	151.882
S7	20.468	3.809	8.204	8.668	24.081	58.454	0.830	147.798
S8	21.860	5.294	9.266	12.016	26.993	76.418	0.950	153.066
S9	22.472	5.352	12.419	12.139	27.082	78.113	0.878	150.625
S10	20.204	5.369	12.448	12.205	27.384	77.443	0.964	149.711
S11	20.384	3.780	8.330	9.094	24.576	58.994	0.785	113.333
S12	13.895	2.618	6.555	8.183	18.500	49.834	0.531	96.101
S13	14.347	2.598	6.250	8.140	18.464	50.774	0.552	98.111
S14	14.360	2.773	6.814	8.395	19.052	51.249	0.573	99.686
S15	14.611	3.133	11.744	7.577	17.813	51.841	0.687	99.335
S16	15.681	3.561	7.607	8.003	19.227	49.842	0.753	106.504
S17	15.519	3.577	7.673	7.978	19.129	54.799	0.753	105.448
S18	14.263	2.705	6.696	8.381	18.919	51.434	0.560	98.652
S19	18.366	3.034	12.377	7.698	16.503	60.409	0.837	110.819
S20	20.128	3.857	8.338	8.649	23.838	57.577	0.822	111.852
S21	15.433	3.493	7.693	8.201	19.207	49.160	0.753	105.616
S22	18.493	3.045	9.418	7.719	16.668	60.694	0.855	112.453
S23	17.045	2.902	7.197	6.903	14.840	55.223	0.793	102.727
S24	11.233	2.654	11.238	4.956	10.895	44.728	0.428	83.328
S25	10.108	2.942	13.707	6.601	14.896	44.873	0.510	85.321
S26	11.611	2.955	6.876	6.749	15.102	44.791	0.538	84.923
S27	10.875	2.864	13.827	6.501	14.497	43.822	0.544	82.664
S28	11.493	2.914	6.812	6.789	14.854	43.248	0.532	85.387
S29	12.090	3.022	13.796	7.178	15.449	46.976	0.490	88.723
S30	11.740	2.892	6.652	6.596	14.690	43.563	0.504	81.827

2.5　黄柏药材含量的化学计量学分析

2.5.1　层次聚类分析

以30批黄柏药材中8个成分的含量为变量，采用SPSS 27.0软件进行层次聚类分析（hierarchical cluster analysis，HCA），以组间联接法，设置平方欧氏距离为距离度量。结果（图3）显示，当平方欧氏距离为5时，30批黄柏药材样品可聚为3类，S1～S10为一类，S11～S23为一类，S24～S30为一类。

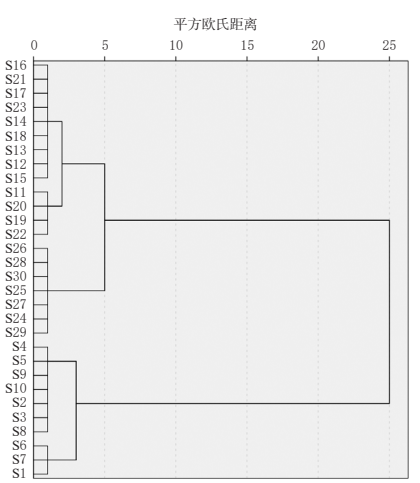


图3　30批黄柏样品的HCA树状图

2.5.2　主成分分析

以30批黄柏药材中8个成分含量的标准化数据为变量，采用SPSS 27.0软件进行主成分分析（principal component analysis，PCA）。结果显示，以特征值＞1为

标准[10]，提取得到2个主成分，累积方差贡献率为91.613%，表明这2个主成分能较好地反映黄柏药材中大部分成分信息。主成分1的方差贡献率为78.977%，其中3-*O*-阿魏酰奎宁酸、盐酸小檗碱、5-*O*-阿魏酰奎宁酸及盐酸黄柏碱在该主成分上的载荷值突出；主成分2的方差贡献率为12.636%，绿原酸在该主成分上载荷值较高，表明上述5个成分对黄柏药材整体质量具有重要影响。

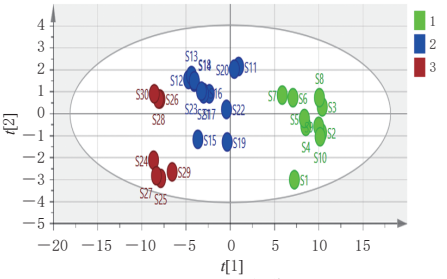
将提取的2个主成分得分分别记为Y_1、Y_2，结合各主成分对应的方差贡献率确定权重占比，得到主成分综合得分（$Y_{综}$）=0.841 0Y_1+0.159 0Y_2。结果（表4）显示，四川产区10批黄柏药材（编号S1～S10）的综合得分排前10位，表明该产区样品整体质量较为均衡，在一定程度上反映了四川产区的黄柏药材含量较高。

表4　30批黄柏药材主成分综合得分

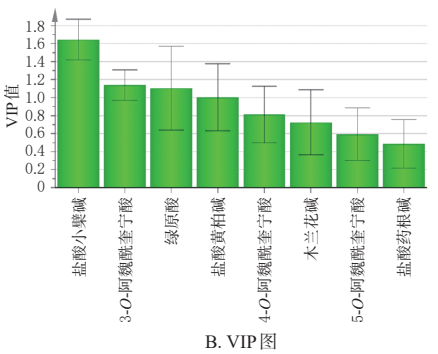
编号	综合得分	排名	编号	综合得分	排名
S1	0.515 0	9	S16	−0.275 0	16
S2	1.419 6	1	S17	−0.232 1	15
S3	1.395 9	2	S18	−0.566 0	21
S4	1.234 3	6	S19	−0.075 1	13
S5	1.078 3	7	S20	0.222 2	12
S6	0.606 2	8	S21	−0.290 1	17
S7	0.420 5	10	S22	−0.098 9	14
S8	1.245 8	5	S23	−0.444 3	19
S9	1.305 3	3	S24	−1.221 9	30
S10	1.290 8	4	S25	−0.907 4	25
S11	0.267 0	11	S26	−0.962 0	27
S12	−0.660 9	23	S27	−0.912 7	26
S13	−0.626 6	22	S28	−0.993 8	28
S14	−0.537 3	20	S29	−0.758 3	24
S15	−0.399 4	18	S30	−1.039 2	29

2.5.3　偏最小二乘判别分析

以30批黄柏药材中8个成分的含量为变量，采用SIMCA 14.0软件进行偏最小二乘-判别分析（partial least squares-discriminant analysis，PLS-DA）。结果显示，PLS-DA模型的R^2X为0.999、R^2Y为0.833、Q^2为0.717，表明模型的重复性、预测性良好。为防止模型过拟合，对建立的PLS-DA模型进行200次置换检验，结果显示，置换检验生成的R^2为0.109（＜0.3），Q^2为−0.704（＜0），表明模型未出现过拟合，预测能力较好。PLS-DA得分图（图4A）显示，30批黄柏药材分为3类，分类结果与HCA结果一致。以变量重要性投影（variable importance in projection，VIP）值＞1为标准[11]，筛选对分类结果贡献较大的化学成分。结果（图4B）显示，盐酸小檗碱、3-*O*-阿魏酰奎宁酸、绿原酸、盐酸黄柏碱的VIP值均大于1，表明这4个成分可能是造成不同批次黄柏药材质量差异的标志物。



A. PLS-DA得分图



B. VIP图

图4　黄柏样品的PLS-DA结果

3　讨论

3.1　色谱条件与提取方法考察

本研究通过对不同流动相（0.1%磷酸溶液-乙腈、乙腈-水、甲醇-水）进行考察后发现，以0.1%磷酸溶液-乙腈为流动相时，色谱图基线较平稳，各色谱峰的分离效果以及峰形均较好。考虑到黄柏药材中各目标成分的极性差异较大，等度洗脱难以兼顾早期极性峰与晚期非极性峰的分离要求，故本研究选择0.1%磷酸溶液-乙腈为流动相进行梯度洗脱。

单一波长无法保证每个指标成分都具有较强的色谱响应，为能更准确测定各成分的含量，本研究借助二极管阵列检测器进行全波长扫描，确定了8个成分的最大吸收波长（盐酸黄柏碱285 nm，木兰花碱、绿原酸、盐酸药根碱、盐酸小檗碱230 nm，5-*O*-阿魏酰奎宁酸、4-*O*-阿魏酰奎宁酸、3-*O*-阿魏酰奎宁酸330 nm），结果显示，采用多波长切换检测可实现多成分同步精准测定[12]。此外，本研究还考察了不同提取溶剂（60%甲醇、80%甲醇、甲醇、60%甲醇-0.1%磷酸溶液、80%甲醇-0.1%磷酸溶液、甲醇-0.1%磷酸溶液）、提取方式（加热回流和超声提取）、溶剂量（25、50、75、100 mL）对黄柏药材指纹图谱的影响，综合考虑主要色谱峰的峰面积和分离度，最终确定使用50 mL的80%甲醇-0.1%磷酸溶液（4∶1，*V*/*V*）进行超声提取。

3.2　指纹图谱与多成分含量测定结果分析

本研究建立了30批黄柏药材的HPLC指纹图谱，共标定了16个共有峰；通过与混合对照品比对，指认了盐酸黄柏碱、木兰花碱、绿原酸、5-*O*-阿魏酰奎宁酸、4-*O*-阿魏酰奎宁酸、3-*O*-阿魏酰奎宁酸、盐酸药根碱和盐酸小

檗碱8个共有峰；30批黄柏药材与对照指纹图谱的相似度均大于0.98，表明不同产地黄柏药材的化学成分整体一致性良好。含量测定结果显示，30批黄柏药材中盐酸黄柏碱、木兰花碱、绿原酸、5-*O*-阿魏酰奎宁酸、4-*O*-阿魏酰奎宁酸、3-*O*-阿魏酰奎宁酸、盐酸药根碱和盐酸小檗碱的含量分别为10.108～22.745、2.598～5.529、6.250～13.942、4.956～12.433、10.895～27.384、43.248～78.924、0.428～1.154、81.827～153.066 mg/g，且不同产地黄柏药材中8个成分含量存在一定差异，推测可能与土壤、气候、生长的地理环境等因素有关。

本研究建立的黄柏药材HPLC指纹图谱中，有8个共有峰因缺乏相应对照品而未有归属结果，故含量测定仅聚焦于已指认的8个成分，其原因除考虑到方法学验证和定量准确性外，未指认的共有峰多为微量次生代谢产物，其含量波动对整体质量判别的贡献度有限，故未进行定量，后续研究可结合液相色谱-串联质谱等技术对未指认的共有峰进行结构鉴定，以进一步完善黄柏药材的质量评价体系。

3.3 化学计量学结果分析

为评价不同批次黄柏药材的质量差异并筛选差异标志物，本研究基于黄柏中8个已知成分的含量数据进行化学计量学分析。HCA和PCA结果显示，30批黄柏药材分为3类，分类结果和产地存在一定的对应关系。10批（编号S1～S10）四川产区的黄柏药材的综合得分排前10位，表明该产区黄柏药材整体质量较优。PLS-DA结果显示，盐酸小檗碱、3-*O*-阿魏酰奎宁酸、绿原酸、盐酸黄柏碱可能是造成黄柏药材产地间差异的主要成分。考虑到绿原酸广泛分布于芸香科、菊科等药用植物中，并非黄柏药材的特征性成分，若作为差异标志物，将无法有效区分黄柏与其他含绿原酸的药材；且绿原酸与3-*O*-阿魏酰奎宁酸、5-*O*-阿魏酰奎宁酸等同为酚酸类成分，在化学结构和生物合成途径上具有密切关联，其含量变化在一定程度上可被其他阿魏酰奎宁酸类成分涵盖，故不将其作为潜在差异标志物。因此，笔者建议将盐酸小檗碱、盐酸黄柏碱、3-*O*-阿魏酰奎宁酸作为评价黄柏药材整体质量的差异标志物。

本研究所用的30批黄柏药材覆盖四川、贵州、云南、广西、湖北5个省份，各产区的样本量存在差异（四川10批、贵州5批、云南5批、广西5批、湖北5批），这可能对聚类分析结果产生一定影响。HCA结果也表明，产地因素对黄柏化学成分的积累具有主导性影响，样品分组结果与产地来源对应。

此外，本研究未以黄柏指纹图谱中的共有峰峰面积为变量进行化学计量学分析，其原因主要为相对峰面积属于比值数据，虽可体现样品批次间的相对变化，但易受紫外响应差异的影响，难以反映成分的真实含量水平及归属；加之部分共有峰因无对照品，而无法确定具体结构，故本研究仅以指纹图谱中8个已指认共有峰的含量为变量进行化学计量学分析。

综上所述，本研究所建HPLC指纹图谱及含量测定方法稳定、可靠，基于多成分含量数据的化学计量学分析可用于黄柏药材的质量评价；盐酸小檗碱、盐酸黄柏碱、3-*O*-阿魏酰奎宁酸可能是影响黄柏药材整体质量的差异标志物。

利益冲突 本文所有作者声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：一部[M].2025年版. 北京：中国医药科技出版社，2025：326-327.

[2] 路舜，崔红倩，申远. 黄柏与关黄柏化学成分及药理作用研究进展[J]. 新乡医学院学报，2023(5)：478-482.

[3] 段仪，刘秦明，卢开华，等. 咖啡生物活性物质及其健康功效研究进展[J]. 食品工业科技，2025，46(7)：11-21.

[4] 张冠英，董瑞娟，廉莲. 川黄柏、关黄柏的化学成分及药理活性研究进展[J]. 沈阳药科大学学报，2012，29(10)：812-821.

[5] Ao X L，Yan J L，Liu S L，et al. Extraction，isolation and identification of four phenolic compounds from *Pleioblastus amarus* shoots and their antioxidant and anti-inflammatory properties *in vitro*[J]. Food Chem，2022，374：131743.

[6] Shou J W，Shaw P C. Therapeutic efficacies of berberine against neurological disorders：an update of pharmacological effects and mechanisms[J]. Cells，2022，11(5)：796.

[7] 葛珊，魏昀，吴晨，等. 秦艽、威灵仙主要成分龙胆苦苷、木兰花碱对RA模型大鼠抗炎作用机制研究[J]. 中药药理与临床，2022，38(4)：62-67.

[8] 罗国安，王义明. 中药指纹图谱的分类和发展[J]. 中国新药杂志，2002，11(1)：46-51.

[9] 久欣，张慧文，刘宏，等. 化学计量学方法在中药质量标志物中的应用[J]. 中成药，2021，43(12)：3416-3421.

[10] 王振洲，刘芮，李生，等. 基于指纹图谱、化学模式识别及网络药理学预测银花泌炎灵片质量标志物[J]. 中国现代应用药学，2024，41(1)：97-105.

[11] 林伟雄，王寿富，陈仕妍，等. 多成分含量测定结合抗氧化活性的化学计量学分析筛选五味子标准汤剂质量标志物的研究[J]. 南京中医药大学学报，2024，40(3)：289-301.

[12] 王茜，廖华军，鞠伟闽，等. 基于多元统计分析的草珊瑚不同药用部位中10种成分含量的研究[J]. 中国药学杂志，2023，58(11)：977-986.

（收稿日期：2026-08-14 修回日期：2026-10-15）

（本文责编：陈 宏）