

## 基于超分子“印迹模板”理论分析身痛逐瘀汤 基准样品的质量属性

朱志飞, 刘有志, 吴月峰, 袁筱, 周晋\*, 贺福元\*

(湖南中医药大学药学院, 中药成药性与制剂制备湖南省重点实验室, 中医药超分子机理与数理特征化实验室, 中药药性与药效国家中医药管理局重点实验室, 长沙 410208)

**[摘要]** 目的: 基于超分子“印迹模板”理论, 研究身痛逐瘀汤成分群在药材-饮片-复方制备过程中的自主作用规律, 阐明其质量属性的量值传递规律。方法: 建立身痛逐瘀汤超高效液相色谱法(UPLC)指纹图谱, 流动相0.4%磷酸水溶液(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0~2.5 min, 100%A; 2.5~6 min, 100%~96%A; 6~15 min, 96%~92%A; 15~25 min, 92%~88%A; 25~35 min, 88%~75%A; 35~50 min, 75%~65%A; 50~60 min, 65%~50%A; 60~65 min, 50%~30%A; 65~70 min, 100%A), 检测波长235 nm, 计算药材、饮片及基准样品指纹图谱的总量统计矩、信息熵和一次投料量等参数; 计算基准样品出膏率及药材-饮片-复方转移率和加合参数。结果: 15批药材、饮片UPLC指纹图谱总量统计矩相似度均>0.89, 12味药材与饮片UPLC指纹图谱的信息熵相对标准偏差(RSD)均<10%。身痛逐瘀汤(药材)的总量一阶矩(MCRT<sub>T</sub>)、信息熵的RSD分别为5.5%、2.3%, 身痛逐瘀汤(饮片)的则依次为4.8%、2.6%。45批全方的出膏率在17.2%~20.2%。药材-饮片转移率数据在波动范围内, 药材-复方、饮片-复方的整体传递率分别为101.8%、83.0%。结论: 身痛逐瘀汤基准样品的质量属性可采用总量统计矩分析法、一次投料量分析法等进行研究, 该方法可在一定程度上印证超分子“印迹模板”理论。

**[关键词]** 身痛逐瘀汤; 基准样品; 超分子“印迹模板”; 质量属性; 总量统计矩; 信息熵; 超高效液相色谱法(UPLC)

**[中图分类号]** R22; R28; R289; O657 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2023)11-0171-08

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20220450 **[增强出版附件]** 内容详见 <http://www.syfjxzz.com> 或 <http://cnki.net>

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220412.1136.001.html>

**[网络出版日期]** 2022-04-13 15:00:48

### Analysis on Quality Attribute of Substance Benchmarks of Shentong Zhuyutang Based on Supramolecular "Imprinting Template" Theory

ZHU Zhifei, LIU Youzhi, WU Yuefeng, YUAN Xiao, ZHOU Jin\*, HE Fuyuan\*

(School of Pharmacy, Hunan Key Laboratory of Druggability and Preparation Modification of Traditional Chinese Medicine (TCM), Laboratory of Supramolecular Mechanism and Mathematic-physics Characterization for Chinese Materia Medica, Property and Pharmacodynamic Key Laboratory of TCM, National Administration of TCM, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

**[Abstract]** **Objective:** Based on the supramolecular "imprinting template" theory, the autonomous action law of the component groups of Shentong Zhuyutang in the preparation process of medicinal materials-decoction pieces-formulas was studied to clarify the quantitative transfer law of its quality attributes. **Method:** Ultra performance liquid chromatography (UPLC) fingerprint of Shentong Zhuyutang was established with

**[收稿日期]** 2021-12-24

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81903759); 湖南省教育厅项目(18K071); 湖南省中医药科研课题(A2023037); 湖南省自然科学基金项目(2022JJ80090); 长沙市科学技术局项目(kq2004059); 湖南省教育厅科学研究项目(21A0256); 湖南省研究生科研创新项目(CX20210711, CX20220790); 湖南中医药大学大学生创新训练项目(2022-215)

**[第一作者]** 朱志飞, 硕士, 从事中药药剂学研究; E-mail: 1519153144@qq.com

**[通信作者]** \*周晋, 博士, 副教授, 从事药物制剂质量评价、中医药超分子与数理特征化研究, E-mail: hnzhoujin@sina.com;

\*贺福元, 博士, 教授, 从事中药药理学、中药药剂学、中医药超分子与数理特征化研究, E-mail: pharmsharking@tom.com

mobile phase of 0.4% phosphoric acid aqueous solution (A) -acetonitrile (B) for gradient elution (0-2.5 min, 100%A; 2.5-6 min, 100%-96%A; 6-15 min, 96%-92%A; 15-25 min, 92%-88%A; 25-35 min, 88%-75%A; 35-50 min, 75%-65%A; 50-60 min, 65%-50%A; 60-65 min, 50%-30%A; 65-70 min, 100%A) and detection wavelength of 235 nm, and the total statistical moments, information entropy and primary feeding amount of fingerprint of medicinal materials, decoction pieces and benchmark samples were calculated. Dry extract rate of the benchmark samples, the transfer rates and the addition parameters of medicinal materials-decoction pieces-formulas were calculated. **Result:** Similarities of the total statistical moments of UPLC fingerprint of 15 batches of medicinal materials and decoction pieces were  $>0.89$ , the relative standard deviations (RSDs) of information entropy of UPLC fingerprint of 12 medicinal materials and decoction pieces were  $<10\%$ . RSDs of total first-order moment ( $MCRT_T$ ) and information entropy of Shentong Zhuyutang (medicinal materials) were 5.5% and 2.3%, while the RSDs of  $MCRT_T$  and information entropy of Shentong Zhuyutang (decoction pieces) were 4.8% and 2.6%, respectively. The dry extract rate of 45 batches of Shentong Zhuyutang was 17.2%-20.2%. The transfer rate of medicinal materials to decoction pieces was within the range of data fluctuation, which was 70%-130% of the average value. The overall transfer rates of medicinal materials to decoction pieces and decoction pieces to benchmark samples were 101.8% and 83.0%, respectively. **Conclusion:** The quality properties of Shentong Zhuyutang benchmark samples can be studied by total statistical moment analysis and primary feeding amount analysis, which can confirm the supramolecular "imprinting template" theory to a certain extent.

**[Keywords]** Shentong Zhuyutang; benchmark samples; supramolecular "imprinting template"; quality attributes; total statistical moments; information entropy; ultra performance liquid chromatography (UPLC)

身痛逐瘀汤出自《医林改错》，由秦艽、羌活、川芎、红花、没药、当归、五灵脂、香附、牛膝、地龙、甘草、桃仁共12味药组成，功效活血祛瘀、祛风除湿，用于瘀阻脉络之肢体臂痛或关节疼痛等证，临床应用广泛，具有较高的开发价值。

经典名方研制成功的关键在于制备符合质量要求的复方基准样品，以作为复方制剂质量控制的“复方对照品”，但要研制出符合现行对照品的稳定性及“复方对照品”的传递性要求的基准样品还存在很大困难<sup>[1-3]</sup>，主要涉及度量衡不统一、药材质量稳定性不足、制剂工艺不明确等<sup>[4-5]</sup>，这些问题相互交织，制约着基准样品的研制，因此，亟需探索中药复方基准样品的制备及其质量属性控制体系建立。本课题组在前期研究基础上，提出中药作为自然界生物超分子的聚集体，药渣作为主体分子与客体药物有效成分按照各级“印迹模板”结构发生自组装和自复制作用，提示药材质量的遗传多态性受控于超分子体属性；饮片炮制加工前后成分变化可受到超分子化学“印迹模板”制约；制剂制备过程中搭配投料方式及工艺过程受到“印迹模板”自识别、自组装、自组织等自主作用<sup>[6]</sup>。说明把握中药超分子“印迹模板”作用机制研究对经典名方基准样品研制具有重要意义，即可通过一次投料量、总量统计矩、信息熵、信息量、加合性的计算，以及建立炮制火候模

型等实现身痛逐瘀汤基准样品质量的均一稳定。基于此，本实验拟在超分子“印迹模板”基础上，通过研究组方药材、饮片及全方的稳态性投料量、炮制的超分子化学机制、制备工艺及质量评价的超分子作用，阐明药材-饮片-基准样品的量值传递规律，以实现身痛逐瘀汤基准样品的质量稳定，为古代经典名方复方制剂的研发提供参考。

## 1 实验原理

总量统计矩法是将统计矩原理应用于指纹图谱的一种分析方法<sup>[7]</sup>，一张完整的指纹图谱可看成多个特征峰响应值曲线的迭加而成，按其统计原理得4个定性定量参数总量零阶矩 ( $AUC_T$ )、总响应率 ( $AUCPW_T$ )、总量一阶矩 ( $MCRT_T$ )、总量二阶矩 ( $VCRT_T$ )。其中  $AUC_T$  可用于对中药复方制剂成分组进行定量分析，另外3个参数可用于中药指纹图谱的定性分析<sup>[8]</sup>。总量统计矩法具有统计、加合、段带等分析特性，零阶矩表征成分“印迹模板”的数量，一阶矩表征“印迹模板”的作用程度， $VCRT_T$  表征“印迹模板”的作用变异程度，由一、二阶矩与正态分布概率密度函数关联构成相似度可表征“印迹模板”的作用相似程度，通过其对指纹图谱中各成分的印迹行为进行分析，从而可以确定“印迹模板”特征。结合总量统计矩的加合性特征<sup>[9-10]</sup>，将整张指纹图谱按一定方式分段处理，即段带，通过计算

每一段带的总量统计矩参数,可反映在某一段出峰时间内的成分指纹图谱信息。此外,总量统计矩法具有统计、加合、偶联、抗干扰性、段带的分析特性,其中加合性主要可用于药材-饮片-基准样品(复方制剂)的指纹图谱的可溯源性分析,获得各制剂制备工艺段的质量属性特征及传递性规律<sup>[11]</sup>。中药及其复方指纹图谱上有若干个峰,每个峰与相应成分对应,峰强度由对应成分的构成比与在一定色谱条件下的响应系数决定(灵敏度),且还与色谱柱的分离度有关,即某一成分色谱峰的出现是在特定色谱条件下的综合反映。可用信息熵衡量各成分在指纹图谱上的信息变化程度,即将每个成分看成一个信息,通过比较信息熵能够反映指纹图谱所携带成分的信息总量的变化,进行中药质量均一、稳定与可溯源控制。结合指纹图谱信息量,由一次投料量公式计算出多少个数方投料量使质量处于稳态之中;同时根据各饮片指纹图谱的信息量,按处方组成比例,以最大者的一次投料量确定整个处方的一个稳态投料量,实现基准样品的质量稳定<sup>[12-16]</sup>。

## 2 材料

ACQUITY UPLC H-Class型超高效液相色谱仪(美国沃特世公司),FD5-3型真空冷冻干燥机(美国金西盟国际集团),MA110型电子天平(上海良平仪器仪表有限公司)。龙胆苦苷、阿魏酸、苦杏仁苷、羟基红花黄色素A、 $\beta$ -蜕皮甾酮、甘草苷、肌苷、紫花柴胡苷、麝香草酚、 $\alpha$ -香附酮、原儿茶酸对照品(上海源叶生物科技有限公司,批号分别为Y30J9Q66926、H27J7L16718、Z28A6L2815、R31A9F69105、T02A9F57640、Z13J11X108109、TJ0623XA13、W07A10Z94862、TN1112CB14、Z08A10L94945、H21J9Z64031,纯度均 $\geq 98\%$ ),水为怡宝纯净水,乙腈、甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

药材秦艽、川芎、桃仁、红花、甘草、羌活、没药、当归、五灵脂、香附、牛膝、地龙均购自湖南九芝堂股份有限公司,经湖南中医药大学药学院石继连教授鉴定,分别为龙胆科植物秦艽 *Gentiana macrophylla* 的干燥根、伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* 的干燥根茎、蔷薇科植物桃 *Prunus persica* 的干燥成熟种子、菊科植物红花 *Carthamus tinctorius* 的干燥花、豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* 的干燥根及根茎、伞形科植物羌活 *Notopterygium incisum* 的干燥根茎和根、橄榄科植物地丁树 *Commiphora myrrha* 的干燥树脂、伞形科植物当归 *Angelica sinensis* 的干燥根、鼯鼠科动物橙

足鼯鼠 *Trogopterus xanthipes* 的干燥粪便、莎草科植物莎草 *Cyperus rotundus* 的干燥根茎、苋科植物牛膝 *Achyranthes bidentata* 的干燥根、钜蚓科动物参环毛蚓 *Pheretima aspergillum* 的干燥体,均符合2020年版《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)的相关规定[其中五灵脂符合2010年版《中国药典》(一部)附录Ⅲ的相关规定],产地信息见增强出版附加材料,并按前期优选的工艺炮制成饮片<sup>[17]</sup>。

## 3 方法

### 3.1 溶液的制备

**3.1.1 基准样品溶液** 据《医林改错》记载,身痛逐瘀汤组方为秦艽一钱、川芎二钱、桃仁三钱、红花三钱、甘草二钱、羌活一钱、没药二钱、当归三钱、五灵脂(炒)二钱、香附一钱、牛膝三钱、地龙(去土)二钱。前期已对其全方剂量、基原等进行考证,同时,有文献确定清代的一钱折算为现代3.73 g<sup>[18-19]</sup>。按处方比例精密称取全方药味共93.25 g,加10倍量水浸泡30 min,武火煮沸后加热回流提取1 h,趁热用200目纱布过滤,加95%乙醇至含醇量达80%,放置24 h以上,抽滤,回收上清液,冷冻干燥成粉末。称取该冻干粉0.5 g,加甲醇使溶解并定容至10 mL,超声5 min(300 W, 60 kHz),过0.22  $\mu\text{m}$ 微孔滤膜,取续滤液,得身痛逐瘀汤基准样品溶液。

**3.1.2 单味药材、饮片溶液** 取单味药材、饮片各10 g,按3.1.1项下方法处理,得到相应溶液。

**3.1.3 对照品溶液** 取龙胆苦苷、羟基红花黄色素A、阿魏酸、 $\beta$ -蜕皮甾酮、甘草苷、苦杏仁苷、肌苷、紫花柴胡苷、麝香草酚、 $\alpha$ -香附酮、原儿茶酸适量,精密称定,加甲醇稀释并定容,得质量浓度分别为25.43、5.25、14.64、6.39、8.06、26.49、5.31、6.97、11.86、10.48、9.32  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的混合对照品溶液,备用。

**3.2 色谱条件** Waters ACQUITY UPLC HSS T3色谱柱(2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.8  $\mu\text{m}$ ),流动相0.4%磷酸水溶液(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0~2.5 min, 100%A; 2.5~6 min, 100%~96%A; 6~15 min, 96%~92%A; 15~25 min, 92%~88%A; 25~35 min, 88%~75%A; 35~50 min, 75%~65%A; 50~60 min, 65%~50%A; 60~65 min, 50%~30%A; 65~70 min, 100%A),检测波长235 nm,柱温40  $^{\circ}\text{C}$ ,流速0.6  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ,进样量1  $\mu\text{L}$ 。

## 4 结果与分析

**4.1 药材-饮片-基准样品超高效液相色谱法(UPLC)指纹图谱**

**4.1.1 药材和饮片的UPLC指纹图谱建立** 前期已

对身痛逐瘀汤的12味药材基原、饮片炮制、最佳制备工艺及最佳指纹图谱条件进行了考察<sup>[15,17,20-21]</sup>。各药材、饮片的UPLC指纹图谱见增强出版附加材料。计算各药材、各饮片的总量统计矩相似度范围分别为0.898 5~0.958 2、0.907 2~0.968 4,说明相似度均较好。

**4.1.2 基于均匀设计表的基准样品指纹图谱** 按相关要求,需通过分析3个产地15批药材所制备基准样品的质量来确定定量指标上限和下限<sup>[22]</sup>。对于提取罐体积问题,可根据不同处方的稳态投料量进行精确设计,量身定做解决;以低于稳态投料量进行投料,可采用均匀设计表解决,以身痛逐瘀汤12味药为12个考察因素,产地为水平,每味药3个产地,每个产地5批样品,共15批。由于均匀设计表较随机数表法分散较均匀,且试验设计点数较大、试验因子数较多,各组合投料的成分波动能体现整体样本特征,只要获得各搭配实验组成分的上限、下限波动的相对标准偏差(RSD),按3倍量可确定其限量标准。即 $U_{45}(45^{12})$ 均匀设计表,制备得到45批身痛逐瘀汤基准样品,计算出膏率17.18%~20.19%,平均值18.7%,见表1;UPLC指纹图谱见图1,计算总量统计矩参数,见表2。

**4.2 药材-饮片-基准样品指纹图谱的相关参数计算** 总量统计矩参数、信息熵、信息量、一次稳态投料量分别按文献[16]中2.1项下公式计算,结果见表3-表6。

**4.3 药材、饮片及基准样品的含量测定及转移率计算** 根据2010、2020年版《中国药典》及文献信息确定各药材指标成分分别为阿魏酸(当归)、龙胆苦苷(秦艽)、苦杏仁苷(桃仁)、甘草苷(甘草)、肌苷(地龙)、麝香草酚(没药)、羟基红花黄色素A(红花)、 $\alpha$ -香附酮(香附)、 $\beta$ -蜕皮甾酮(牛膝)、原儿茶酸(五灵脂)、紫花柴胡苷(羌活)<sup>[23-32]</sup>。在预试验中,根据2020年版《中国药典》(一部)各药材项下的色谱条件, $\beta$ -蜕皮甾酮、 $\alpha$ -香附酮等成分因波长不适合而检测含量较少,所以对12味药材15批UPLC指纹图谱进行全波长扫描(190~400 nm),并结合信息熵公式<sup>[16]</sup>,计算从215 nm开始每隔5 nm的信息熵,以波长为横坐标,信息熵为纵坐标作图。结合信息熵与理论塔板数等系统适应性条件,确定川芎、地龙最大吸收波长均为225 nm,桃仁、没药最大吸收波长230 nm,五灵脂、香附最大吸收波长210 nm,当归、秦艽、羌活、牛膝、甘草、红花的最大吸收波长分别为230、220、265、305、230、400 nm。在最大吸收波

表1 45批身痛逐瘀汤的出膏率

Table 1 Dry extract rates of 45 batches of Shentong Zhuyutang

| No. | 药材<br>总重/g | 冻干粉<br>/g | 出膏<br>率/% | No. | 药材<br>总重/g | 冻干粉<br>/g | 出膏<br>率/% |
|-----|------------|-----------|-----------|-----|------------|-----------|-----------|
| 1   | 94.38      | 21.58     | 18.52     | 24  | 93.04      | 21.28     | 18.26     |
| 2   | 95.37      | 21.23     | 18.22     | 25  | 95.29      | 21.00     | 18.02     |
| 3   | 93.92      | 21.45     | 18.40     | 26  | 93.90      | 22.12     | 18.98     |
| 4   | 93.55      | 21.50     | 18.45     | 27  | 93.26      | 21.30     | 18.28     |
| 5   | 94.26      | 21.69     | 18.61     | 28  | 93.25      | 22.05     | 18.92     |
| 6   | 92.89      | 22.20     | 19.05     | 29  | 93.68      | 21.50     | 18.45     |
| 7   | 93.27      | 22.19     | 19.04     | 30  | 92.90      | 23.02     | 19.75     |
| 8   | 94.03      | 21.09     | 18.10     | 31  | 93.82      | 22.13     | 18.99     |
| 9   | 93.56      | 22.10     | 18.96     | 32  | 94.56      | 20.18     | 17.31     |
| 10  | 92.03      | 22.24     | 19.08     | 33  | 93.98      | 21.58     | 18.52     |
| 11  | 93.71      | 23.53     | 20.19     | 34  | 93.26      | 22.13     | 18.99     |
| 12  | 94.03      | 21.23     | 18.22     | 35  | 94.00      | 21.46     | 18.41     |
| 13  | 93.28      | 22.35     | 19.18     | 36  | 93.02      | 23.14     | 19.85     |
| 14  | 95.10      | 21.18     | 18.17     | 37  | 94.28      | 21.57     | 18.51     |
| 15  | 94.87      | 21.35     | 18.32     | 38  | 93.29      | 22.48     | 19.29     |
| 16  | 93.28      | 22.05     | 18.92     | 39  | 93.48      | 23.13     | 19.85     |
| 17  | 93.76      | 21.14     | 18.14     | 40  | 93.25      | 23.40     | 20.08     |
| 18  | 94.10      | 20.02     | 17.18     | 41  | 95.04      | 22.27     | 19.11     |
| 19  | 93.99      | 21.48     | 18.43     | 42  | 94.03      | 22.30     | 19.13     |
| 20  | 94.82      | 23.40     | 20.08     | 43  | 93.26      | 22.18     | 19.03     |
| 21  | 95.85      | 21.15     | 18.15     | 44  | 94.48      | 23.04     | 19.77     |
| 22  | 95.30      | 20.12     | 17.26     | 45  | 95.89      | 21.18     | 18.17     |
| 23  | 93.03      | 21.32     | 18.29     |     |            |           |           |

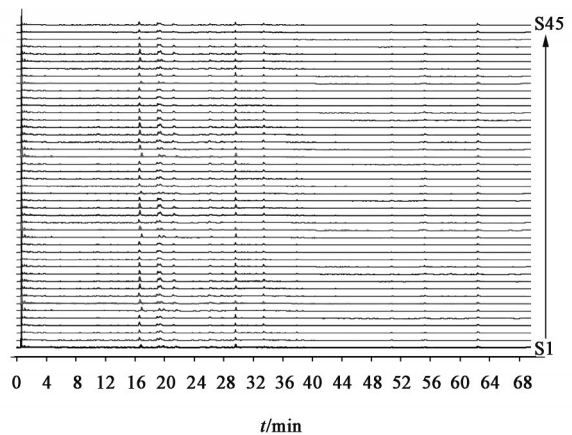


图1 45批身痛逐瘀汤基准样品的UPLC指纹谱

Fig. 1 UPLC fingerprint of 45 batches of Shentong Zhuyutang benchmark samples

长下对各药材、饮片及基准样品进行含量测定,计算各成分的转移率,数据见增强出版附加材料。同时,根据文献[33]中1.2项下公式计算加合性参数,相关数据见增强出版附加材料,以阐释药材-饮片-

表2 45批身痛逐瘀汤基准样品UPLC指纹图谱的总量统计矩参数、信息熵和信息量

Table 2 Total statistical moment parameters, information entropy and information content of UPLC fingerprint of 45 batches of Shentong Zhuyutang benchmark samples

| 参数                                  | 平均值                  | 标准偏差                 | RSD/% |
|-------------------------------------|----------------------|----------------------|-------|
| 峰数/个                                | 155.38               | 10.35                | 6.7   |
| AUC <sub>T</sub>                    | 7.31×10 <sup>6</sup> | 1.64×10 <sup>6</sup> | 22.4  |
| MCRT <sub>T</sub> /min              | 25.34                | 2.03                 | 8.0   |
| VCRT <sub>T</sub> /min <sup>2</sup> | 361.76               | 28.15                | 8.5   |
| 信息熵                                 | 4.16                 | 0.22                 | 5.3   |
| 信息量                                 | 3.33×10 <sup>7</sup> | 1.55×10 <sup>7</sup> | 46.6  |

基准样品的总体质量传递性<sup>[10,33]</sup>。

### 5 讨论

本文研究结果显示,45批身痛逐瘀汤基准样品的出膏率处于17.18%~20.19%,平均值18.7%;UPLC指纹图谱MCRT<sub>T</sub>和信息熵的平均值分别为25.34、4.16,RSD均<10%,均未出现离散数据(均值的70%~130%),说明45批基准样品质量较稳定。由表3~表6可知,不同药味(饮片)之间的总量统计矩参数明显不同,可以进行药味(饮片)之间药性的区分,若RSD<10%,表明药味与药味之间的“印迹模板”相似、印迹趋势稳定,其药理作用或者活性相似,可为临床实验研究提供依据;反之RSD≥10%,药味(饮片)之间整体的“印迹模板”不相似,可进行药材与炮制品之间的区分。复方的稳定性要从整体来看,身痛逐瘀汤(药材)的MCRT<sub>T</sub>、信息熵的

RSD分别为5.5%、2.3%,身痛逐瘀汤(饮片)的则依次为4.8%、2.6%,说明15批身痛逐瘀汤药材或饮片整体质量属性稳定。其中单味药材的峰数、AUC<sub>T</sub>、MCRT<sub>T</sub>、VCRT<sub>T</sub>、信息熵、信息量的平均值与单味饮片的平均值对比,有下降也有上升,意味着饮片炮制过程中有成分的损失也有成分的新增,但总体身痛逐瘀汤药材和饮片的峰数、AUC<sub>T</sub>、MCRT<sub>T</sub>、VCRT<sub>T</sub>等数值对比有所下降,即成分有所损失,具体是哪味药导致的成分损失,要进行药材或饮片特征含量测定后计算转移率才能得知,或者通过总量统计矩加合性参数的计算。再根据12味药材及饮片的信息量、操作单位和处方用量得到一次稳态投料量,结果显示,各药材、饮片的一次稳态投料量都少于复方药材,其中,处方用量下的一次稳态投料量远大于操作单位克数,更能确保药材、饮片成分的均一、稳定。

由15批身痛逐瘀汤药材-饮片-基准样品的指标成分转移率(增强出版附加材料)可知,药材-饮片的阿魏酸(当归)、甘草苷、肌苷、羟基红花黄色素A、麝香草酚、紫花柴胡苷、β-蜕皮甾酮、龙胆苦苷、阿魏酸(川芎)、苦杏仁苷、原儿茶酸、α-香附酮的转移率平均值为97.6%、95.5%、46.6%、87.1%、99.2%、79.3%、35.3%、85.7%、87.6%、89.0%、95.9%、82.7%,RSD为7.1%、7.8%、13.0%、7.0%、10.5%、6.3%、5.9%、6.3%、11.5%、8.2%、6.1%、3.6%;饮片-基准样品的转移率平均值为58.2%、59.8%、109.6%、5.2%、3.3%、48.9%、66.6%、19.5%、86.1%、49.5%、120.4%、

表3 15批身痛逐瘀汤及单味药材指纹图谱的总量统计矩参数、信息熵和信息量( $\bar{x}\pm s, n=15$ )

Table 3 Total statistical moment parameters, information entropy and information content of UPLC fingerprint of 15 batches of Shentong Zhuyutang and medicinal materials ( $\bar{x}\pm s, n=15$ )

| 来源    | 峰数/个         | AUC <sub>T</sub>            | MCRT <sub>T</sub> /min | VCRT <sub>T</sub> /min <sup>2</sup> | 信息熵       | 信息量                         |
|-------|--------------|-----------------------------|------------------------|-------------------------------------|-----------|-----------------------------|
| 当归    | 113.87±25.48 | (9.71±4.48)×10 <sup>6</sup> | 22.56±3.53             | 339.47±78.55                        | 3.51±0.27 | (3.51±1.76)×10 <sup>6</sup> |
| 川芎    | 65.07±15.08  | (2.69±0.60)×10 <sup>6</sup> | 27.36±0.72             | 430.57±35.22                        | 3.11±0.37 | (8.50±2.79)×10 <sup>6</sup> |
| 甘草    | 102.87±6.74  | (4.27±1.10)×10 <sup>6</sup> | 33.91±0.65             | 266.49±33.37                        | 3.42±0.10 | (1.45±0.33)×10 <sup>7</sup> |
| 地龙    | 70.27±5.60   | (8.28±1.27)×10 <sup>6</sup> | 12.28±0.83             | 398.99±27.54                        | 2.91±0.05 | (2.41±0.38)×10 <sup>6</sup> |
| 羌活    | 121.13±1.73  | (1.72±0.04)×10 <sup>7</sup> | 30.37±0.12             | 143.92±2.75                         | 2.93±0.02 | (5.04±1.32)×10 <sup>7</sup> |
| 秦艽    | 104.53±28.90 | (1.00±0.64)×10 <sup>6</sup> | 19.90±0.79             | 106.35±14.76                        | 2.41±0.35 | (2.61±1.90)×10 <sup>7</sup> |
| 没药    | 123.20±12.80 | (4.86±1.33)×10 <sup>6</sup> | 42.85±4.03             | 288.25±74.63                        | 4.11±0.19 | (1.98±0.49)×10 <sup>7</sup> |
| 五灵脂   | 110.07±2.74  | (8.83±0.36)×10 <sup>6</sup> | 22.44±0.35             | 209.70±7.20                         | 2.91±0.03 | (2.57±0.12)×10 <sup>7</sup> |
| 香附    | 142.93±2.84  | (5.26±0.27)×10 <sup>6</sup> | 30.00±0.82             | 442.58±20.69                        | 4.39±0.04 | (2.31±0.10)×10 <sup>7</sup> |
| 红花    | 114.93±4.99  | (5.54±0.10)×10 <sup>6</sup> | 23.77±0.52             | 292.74±35.83                        | 3.71±0.16 | (2.06±0.04)×10 <sup>7</sup> |
| 桃仁    | 78.33±20.81  | (2.92±1.19)×10 <sup>6</sup> | 26.06±4.63             | 530.11±106.64                       | 3.53±0.23 | (1.05±0.47)×10 <sup>7</sup> |
| 牛膝    | 50.33±15.02  | (2.53±1.46)×10 <sup>6</sup> | 16.33±4.19             | 469.55±105.00                       | 2.34±0.10 | (5.98±3.61)×10 <sup>6</sup> |
| 身痛逐瘀汤 | 176.60±7.99  | (4.13±0.84)×10 <sup>6</sup> | 25.87±1.41             | 240.95±25.40                        | 4.62±0.10 | (1.91±0.42)×10 <sup>7</sup> |

表4 15批身痛逐瘀汤及单味药材指纹图谱的总量统计矩参数、信息熵和信息量RSD及一次稳态投料量

Table 4 RSD of total statistical moment parameters, information entropy, information content of UPLC fingerprint of 15 batches of Shentong Zhuyutang and medicinal materials and primary steady-state feeding amount

| 来源    | 峰数<br>RSD/% | AUC <sub>T</sub><br>RSD/% | MCRT <sub>T</sub><br>RSD/% | VCRT <sub>T</sub><br>RSD/% | 信息熵<br>RSD/% | 信息量<br>RSD/% | 操作单位  |            | 处方用量  |            |
|-------|-------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|--------------|--------------|-------|------------|-------|------------|
|       |             |                           |                            |                            |              |              | 数值/g  | 一次稳态投料量/kg | 数值/g  | 一次稳态投料量/kg |
| 当归    | 22.4        | 46.1                      | 15.7                       | 23.1                       | 7.7          | 50.0         | 10    | 29.20      | 11.19 | 61.69      |
| 川芎    | 23.2        | 22.2                      | 2.6                        | 8.2                        | 7.8          | 32.8         | 10    | 12.58      | 7.46  | 41.13      |
| 甘草    | 6.6         | 25.8                      | 1.9                        | 12.5                       | 3.0          | 23.0         | 10    | 6.15       | 7.46  | 41.13      |
| 地龙    | 8.0         | 15.3                      | 6.8                        | 6.9                        | 1.8          | 15.5         | 10    | 2.82       | 7.46  | 41.13      |
| 羌活    | 1.4         | 2.6                       | 0.4                        | 1.9                        | 0.8          | 2.6          | 10    | 0.08       | 3.73  | 20.56      |
| 秦艽    | 27.6        | 63.9                      | 4.0                        | 13.9                       | 6.4          | 72.7         | 10    | 61.69      | 3.73  | 20.56      |
| 没药    | 10.4        | 27.4                      | 9.4                        | 25.9                       | 4.5          | 24.8         | 10    | 7.15       | 7.46  | 41.13      |
| 五灵脂   | 2.5         | 4.0                       | 1.6                        | 3.4                        | 1.1          | 4.8          | 10    | 0.27       | 7.46  | 41.13      |
| 香附    | 2.0         | 5.2                       | 2.8                        | 4.7                        | 1.0          | 4.5          | 10    | 0.24       | 3.73  | 20.56      |
| 红花    | 4.3         | 18.1                      | 2.2                        | 12.2                       | 4.3          | 19.9         | 10    | 4.61       | 11.19 | 61.69      |
| 桃仁    | 26.6        | 40.9                      | 17.8                       | 20.1                       | 6.4          | 44.3         | 10    | 22.85      | 11.19 | 61.69      |
| 牛膝    | 29.9        | 57.8                      | 25.7                       | 22.4                       | 4.1          | 60.4         | 10    | 42.52      | 11.19 | 61.69      |
| 身痛逐瘀汤 | 4.5         | 20.4                      | 5.5                        | 10.5                       | 2.3          | 22.1         | 93.25 | 65.71      | 93.25 | 514.10     |

表5 15批身痛逐瘀汤及单味饮片指纹图谱的总量统计矩参数、信息熵和信息量( $\bar{x} \pm s, n=15$ )

Table 5 Total statistical moment parameters, information entropy and information content of UPLC fingerprint of 15 batches of Shentong Zhuyutang and decoction pieces ( $\bar{x} \pm s, n=15$ )

| 来源    | 峰数/个         | AUC <sub>T</sub>            | MCRT <sub>T</sub> /min | VCRT <sub>T</sub> /min <sup>2</sup> | 信息熵        | 信息量                         |
|-------|--------------|-----------------------------|------------------------|-------------------------------------|------------|-----------------------------|
| 当归    | 107.40±15.54 | (6.89±2.97)×10 <sup>6</sup> | 20.85±3.74             | 409.53±100.65                       | 3.68±0.19  | (2.54±1.12)×10 <sup>7</sup> |
| 川芎    | 122.80±6.20  | (9.37±0.99)×10 <sup>6</sup> | 22.99±0.80             | 333.75±22.47                        | 3.46±0.17  | (3.25±0.43)×10 <sup>7</sup> |
| 甘草    | 169.87±3.85  | (3.25±0.08)×10 <sup>7</sup> | 29.54±0.32             | 215.02±2.74                         | 3.73±0.02  | (1.21±0.03)×10 <sup>8</sup> |
| 地龙    | 62.27±1.67   | (6.79±0.78)×10 <sup>6</sup> | 11.32±0.67             | 392.13±25.95                        | 2.98±0.07  | (2.03±0.75)×10 <sup>7</sup> |
| 羌活    | 131.80±3.03  | (1.98±0.04)×10 <sup>7</sup> | 28.29±0.15             | 168.49±3.53                         | 3.15±0.05  | (6.23±0.02)×10 <sup>7</sup> |
| 秦艽    | 145.53±8.49  | (5.16±1.79)×10 <sup>6</sup> | 18.75±0.41             | 106.27±3.18                         | 3.11±0.25  | (1.65±0.69)×10 <sup>7</sup> |
| 没药    | 123.33±6.25  | (5.40±2.04)×10 <sup>6</sup> | 41.88±2.10             | 296.43±77.57                        | 4.12±0.02  | (2.22±0.83)×10 <sup>7</sup> |
| 五灵脂   | 103.27±1.71  | (6.32±0.13)×10 <sup>6</sup> | 22.10±0.26             | 215.72±3.18                         | 14.69±0.11 | (1.75±0.06)×10 <sup>7</sup> |
| 香附    | 127.67±2.38  | (3.59±0.22)×10 <sup>6</sup> | 32.48±0.65             | 416.23±25.99                        | 4.34±0.05  | (1.56±0.09)×10 <sup>7</sup> |
| 红花    | 151.27±9.07  | (2.67±1.14)×10 <sup>7</sup> | 22.35±0.42             | 200.85±33.00                        | 4.11±0.12  | (1.11±0.51)×10 <sup>8</sup> |
| 桃仁    | 45.93±4.68   | (1.71±0.37)×10 <sup>6</sup> | 35.51±3.71             | 653.21±37.41                        | 2.89±0.10  | (4.96±1.23)×10 <sup>7</sup> |
| 牛膝    | 64.33±3.85   | (3.77±0.20)×10 <sup>6</sup> | 20.09±1.83             | 588.15±26.42                        | 2.51±0.09  | (9.48±0.08)×10 <sup>6</sup> |
| 身痛逐瘀汤 | 152.53±10.17 | (6.97±1.67)×10 <sup>6</sup> | 25.88±1.23             | 363.94±27.97                        | 4.21±0.11  | (3.61±2.50)×10 <sup>7</sup> |

55.2%, RSD 分别为 11.8%、9.9%、5.3%、8.6%、21.5%、9.3%、2.7%、11.7%、11.0%、15.6%、3.8%、3.2%。均处于数据波动范围内(均值的 70%~130%),其中,紫花柴胡苷、肌苷、β-蜕皮甾酮、阿魏酸(川芎)、原儿茶酸、α-香附酮转移率较稳定,当归中的阿魏酸转移率有所下降,可能是加热引起的损失,甘草苷下降可能是甘草调和诸药,导致转移率下降,苦杏仁苷、龙胆苦苷、羟基红花黄色素 A 含量较低,可能是煎煮过程中发生了水解。由身痛逐瘀

汤药材和饮片的加合性参数(增强出版附加材料)可知,通过计算各药材、饮片及复方的总量统计矩的实测值和理论值参数,可得加合性参数,结果药材到复方的整体传递率 101.8%,饮片到复方的整体传递率 83.0%,通过总量统计矩加合性参数的结合量值传递规律分析,可以更全面地表明药材-饮片-基准样品的质量属性传递关系,实现中药复方制剂基准样品的质量稳定。

古代经典名方基准样品的研制受到药材质量、

表6 15批身痛逐瘀汤及单味饮片指纹图谱的总量统计矩参数、信息熵和信息量RSD及一次稳态投料量

Table 6 RSD of total statistical moment parameters, information entropy, information content of UPLC fingerprint of 15 batches of Shentong Zhuyutang and decoction pieces and primary steady-state feeding amount

| 饮片    | 峰数<br>RSD/% | AUC <sub>T</sub><br>RSD/% | MCRT <sub>T</sub><br>RSD/% | VCRT <sub>T</sub><br>RSD/% | 信息熵<br>RSD/% | 信息量<br>RSD/% | 操作单位  |            | 处方用量  |            |
|-------|-------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|--------------|--------------|-------|------------|-------|------------|
|       |             |                           |                            |                            |              |              | 数值/g  | 一次稳态投料量/kg | 数值/g  | 一次稳态投料量/kg |
| 当归    | 14.5        | 43.0                      | 17.9                       | 24.6                       | 5.1          | 43.9         | 10    | 22.43      | 11.19 | 61.69      |
| 川芎    | 5.1         | 10.6                      | 3.5                        | 6.7                        | 4.9          | 13.2         | 10    | 2.04       | 7.46  | 41.13      |
| 甘草    | 2.3         | 2.5                       | 1.1                        | 1.3                        | 0.6          | 2.5          | 10    | 0.08       | 7.46  | 41.13      |
| 地龙    | 2.7         | 11.5                      | 5.9                        | 6.6                        | 2.3          | 13.5         | 10    | 2.13       | 7.46  | 41.13      |
| 羌活    | 2.3         | 2.2                       | 0.5                        | 2.1                        | 1.7          | 3.2          | 10    | 0.12       | 3.73  | 20.56      |
| 秦艽    | 5.8         | 34.7                      | 2.2                        | 3.0                        | 8.0          | 42.1         | 10    | 20.64      | 3.73  | 20.56      |
| 没药    | 5.1         | 37.7                      | 5.0                        | 26.2                       | 0.6          | 37.5         | 10    | 7.15       | 7.46  | 41.13      |
| 五灵脂   | 1.7         | 2.1                       | 1.2                        | 2.1                        | 1.7          | 3.7          | 10    | 0.16       | 7.46  | 41.13      |
| 香附    | 1.9         | 6.1                       | 2.0                        | 6.2                        | 1.1          | 6.3          | 10    | 0.24       | 3.73  | 20.56      |
| 红花    | 6.0         | 42.8                      | 1.9                        | 16.4                       | 3.0          | 45.6         | 10    | 4.61       | 11.19 | 61.69      |
| 桃仁    | 10.2        | 21.4                      | 10.4                       | 5.7                        | 3.5          | 24.8         | 10    | 7.15       | 11.19 | 61.69      |
| 牛膝    | 6.0         | 5.2                       | 9.1                        | 4.4                        | 3.6          | 8.8          | 10    | 0.90       | 11.19 | 61.69      |
| 身痛逐瘀汤 | 6.7         | 23.9                      | 4.8                        | 7.7                        | 2.6          | 69.4         | 93.25 | 56.24      | 93.25 | 514.10     |

制备工艺、评价方法,质量属性传递等因素的影响<sup>[34-40]</sup>。本课题组在前期超分子化学研究的基础上,利用均匀设计表确定身痛逐瘀汤基准样品的全方配伍;采用UPLC建立45批身痛逐瘀汤全方的指纹图谱,以及指标成分的含量测定方法;并通过总量统计矩加合性和指标成分含量转移率的计算,建立“药材-饮片-基准样品”的质量属性传递关系,确定身痛逐瘀汤“印迹模板”在质量传递过程中的变化趋势。其一,中药都是巨复超分子体,药材成分质量的遗传多态性可用一次投料量解决,复方的一次匀兑配投料量用均匀设计解决,结果发现45批身痛逐瘀汤的出膏率均未出现离散数据(平均值的70%~130%);在药材、饮片及全方计算一次投料量时,处方用量的一次稳态投料量远大于操作单位的,更能确保药材、饮片成分的均一、稳定。其二,运用总量统计矩(相似度)法、信息熵、信息量进行药材、饮片及全方的质量评价,亦是对“印迹模板”作用的综合评价,前期运用信息熵最大化原则确定了身痛逐瘀汤基准样品的指纹图谱色谱条件,基于该色谱条件下的药材、饮片及复方的指纹图谱分离度、总量统计矩相似度较好,为“药材-饮片-基准样品”传递性及加合性的计算提供了实验基础。其三,通过总量统计矩相关参数、信息熵、信息量的计算,可区分药材和饮片之间的药理作用或活性是否相似,为临床研究提供依据。其四,通过计算转移率和加合性,实现了“药材-饮片-基准样品”的传递

性。综上所述,通过中药超分子“印迹模板”作用机制研究能阐明“药材-饮片-基准样品”质量属性的量值传递规律,实现基准样品的均一、稳定,为经典名方的开发提供有益借鉴。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] 赵丹. 国家食药监总局发布经典名方简化注册审批管理规定征求意见稿[J]. 中医药管理杂志, 2017, 25(20):190.
- [2] 兰青山,肖苏萍,黄掌欣,等. 谈经典名方现阶段政策法规之启示[J]. 中国现代中药, 2018, 20(7): 780-784.
- [3] 黄蓓.《古代经典名方中药复方制剂简化注册审批管理规定》出台[J]. 中医药管理杂志, 2018, 26(11):206.
- [4] 贺福元,邓凯文,刘文龙,等. 中药复方对人体作用本质:“网通虹势”的多重遗传谱效动力学[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(2):240-247.
- [5] 吴革林,滕菲,杨丹,等. 经典名方温经汤的基准样品特征图谱分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(22):7-14.
- [6] 潘雪,樊启猛,余格,等. 基于超分子“印迹模板”特性的中药质量标志物研究模式的思考[J]. 中草药, 2019, 50(19):4569-4575.
- [7] 贺福元,邓凯文,刘文龙,等. 中药复方多成分体系群体药物动力学:总量统计矩数学模型及参数计算研究[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(20):2866-2870.

- [ 8 ] 贺鹏,李海英,樊启猛,等. 基于超分子理论探索古代经典名方的质量控制模式[J]. 中国实验方剂学杂志,2019,25(16):161-166.
- [ 9 ] 贺福元,邓凯文,黄胜,等. 总量统计矩标准相似度数学模型的建立及应用研究[J]. 药学学报,2013,48(9):1453-1458.
- [10] 段晓鹏,贺福元,周晋,等. 补阳还五汤指纹图谱总量统计矩加合性的研究[J]. 中国中药杂志,2011,36(23):3247-3252.
- [11] 贺福元,邓凯文,刘文龙,等. 中药复方药物动力学总量统计矩法的实验验证研究[J]. 中国中药杂志,2013,38(2):253-262.
- [12] 贺福元,周宏灏,罗杰英,等. 生物遗传多态性规律揭示中药材质量稳定性规律的探讨[J]. 中草药,2008,39(1):2-6,12.
- [13] 樊启猛,刘润南,贺鹏,等. 经典名方单味药材群体指纹图谱信息熵及一次投料量研究[J]. 时珍国医国药,2020,31(4):975-979.
- [14] 唐宇,贺福元,邓凯文,等. 中药燃烧焓、信息熵及生物熵的稳定性揭示其成分间的“虹势性”[J]. 中华中医药杂志,2012,,27(4):867-873.
- [15] 朱志飞,樊启猛,刘有志,等. 基于信息熵最大化原则优化经典名方身痛逐瘀汤 UPLC 指纹图谱[J]. 中草药,2020,51(12):3173-3179.
- [16] 朱志飞,刘金玲,樊启猛,等. 基于指纹图谱段带总量统计矩法和信息熵的桑源药材成分比较分析研究[J]. 中国中药杂志,2021,46(10):2547-2555.
- [17] 朱志飞,刘有志,吴月峰,等. 经典名方身痛逐瘀汤药材精准炮制方法的研究[J]. 湖南中医药大学学报,2021,41(8):1204-1210.
- [18] 郭晶磊,杨永清. 从中国古代大小衡制透视中医古方药物衡值的演变[J]. 科学技术哲学研究,2019,36(4):88-93.
- [19] 许国振. 古今中药剂量换算的考证[J]. 中医文献杂志,2010,28(2):23-24.
- [20] 朱志飞,樊启猛,刘有志,等. 身痛逐瘀汤方证释义及其现代研究进展[J]. 中国中医药信息杂志,2020,27(8):136-140.
- [21] 唐总德,周琦人,李冰杰,等. 经典名方身痛逐瘀汤物质基准的制备工艺研究[J]. 湖南中医药大学学报,2022,42(2):240-245.
- [22] 张欣欣. 大表格均匀设计表构造方法研究[D]. 武汉:华中师范大学,2015:1-35.
- [23] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020.
- [24] 王红叶,冯玉,甄亚钦,等. 川芎标准汤剂的 UPLC 指纹图谱及化学模式研究[J]. 中国药师,2019,22(9):1645-1649.
- [25] 李彤彤,韩红园,王宝丽,等. 红花 UPLC 法特征指纹图谱研究[J]. 中草药,2017,48(5):997-1004.
- [26] 孙云波,张创峰,毕丹,等. 甘草超高压液相色谱指纹图谱研究[J]. 中国中医药信息杂志,2020,27(1):68-72.
- [27] 包小红,何筱毅,刘繁红,等. UPLC 同时测定九味羌活颗粒中 4 种成分的含量[J]. 中药与临床,2017,8(1):29-31.
- [28] 严维花,曹虹虹,郭爽,等. 当归不同炮制品的 UPLC 指纹图谱与多成分含量测定研究[J]. 中国中药杂志,2019,44(12):2499-2510.
- [29] MA J P, GUO Z B, JIN L, et al. Phytochemical progress made in investigations of *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels[J]. Chin J Nat Med, 2015, 13(4): 241-249.
- [30] 李霞,吴木琴,林凤杰,等. 不同产地没药指纹图谱的研究[J]. 中医药导报,2019,25(7):50-54.
- [31] 向阳,陈莹,黄志军,等. 不同产地五灵脂质量评价研究[J]. 世界中医药,2020,15(12):1686-1691.
- [32] 陈莹,聂晶,龙小艳,等. 五灵脂炮制前后指纹图谱及含量测定比较[J]. 世界中医药,2018,13(12):3182-3185,3189.
- [33] 贺鹏,樊启猛,李海英,等. 古代经典名方芍药甘草汤质量稳定性与传递性研究[J]. 时珍国医国药,2020,31(5):1123-1126.
- [34] 陈彭月,刘艳,陈莎,等. 芍药甘草汤药渣中资源性成分的再利用[J]. 中国实验方剂学杂志,2021,27(24):171-177.
- [35] GARST A D, BASSALO M C, PINES G, et al. Genome-wide mapping of mutations at single-nucleotide resolution for protein, metabolic and genome engineering [J]. Nat Biotechnol, 2017, 35(1):48-55.
- [36] 张鹏,刘安,邬兰,等. 经典名方概述与开发探讨[J]. 中国实验方剂学杂志,2020,26(15):183-194.
- [37] 于江泳,袁媛,金艳,等. 基于全国中药资源普查中药材质量基本数据研究思路[J]. 中国现代中药,2016,18(11):1386-1389.
- [38] 唐廷猷. 中药炮制原理研究史初探(新中国部分)[J]. 中国现代中药,2017,19(11):1639-1642.
- [39] 刘艳,张国媛,陈莎,等. 经典名方麻黄汤的处方考证及历史沿革分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2021,27(1):7-16.
- [40] 曾丽华,伍振峰,王芳,等. 中药制剂质量均一性的现状问题及保证策略研究[J]. 中国中药杂志,2017,42(19):3826-3830.

[责任编辑 刘德文]