

· 经典名方 ·

桃红四物汤 HPLC 指纹图谱的总量统计矩及 一次稳态投料量分析

李海英, 贺鹏, 樊启猛, 贺玉婷, 杨岩, 潘雪, 肖美凤*, 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, 长沙 410208)

[摘要] 目的:建立中药及经典名方 HPLC 指纹图谱总量统计矩、信息量及一次投料量数学模型并进行实验验证。方法:运用总量统计矩原理和 Hardy-Weinberg 平衡群体一次稳态投料量计算方法,对来自不同产地的 15 批桃红四物汤原药材、饮片及复方制剂总量统计矩及一次稳态投料量进行研究。结果:除了总量一阶矩外,各药材、饮片及复方总量零阶矩、总量二阶矩、信息熵、信息量的 RSD 均 >10%。用单味原药材投料,除当归外(142.34 kg),按全方累积的信息量的 RSD 变化计算出的一次稳态投料量最大(59.10 kg);而按全方的比例投料,全方一次稳态投料量最大(958.57 kg)。用炮制品投料,除酒红花外(83.28 kg),全方累积的一次稳态投料量最大(73.18 kg);按全方投料,炮制品一次稳态处方投料量均与原药材相同。原药材或炮制品组成的复方,其一次稳态投料量经常大于单味药材的一次稳态投料量。结论:中药成分受遗传多态性控制,中药色谱作用特征(成分种类)相近而作用强度(成分含量)不同,总量一阶矩、信息熵稳定说明中药多成分体系总体化学结构的印迹作用趋势稳定;桃红四物汤各药材及复方一次稳态投料量均远大于处方量,可为工业化大生产提供借鉴。

[关键词] 经典名方;桃红四物汤;总量统计矩;一次稳态投料量;均一性;稳定性;指纹图谱

[中图分类号] R22;R94;R28;C37;O657.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)15-0037-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20191462

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190403.0929.003.html>

[网络出版时间] 2019-04-04 9:42

Analysis of Total Statistical Moment and One-time Steady-state Feeding Quantity of HPLC Fingerprint of Taohong Siwutang

LI Hai-ying, HE Peng, FAN Qi-meng, HE Yu-ting, YANG Yan, PAN Xue, XIAO Mei-feng*, HE Fu-yuan*
(College of Pharmacy, Hunan Provincial Key Laboratory of Druggability and Preparation Modification for
Traditional Chinese Medicine, Laboratory of Supramolecular Mechanism and Mathematic-Physics
Characterization for Chinese Materia Medica, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a mathematical model of total statistical moment, information amount and one-time steady-state feeding quantity of HPLC fingerprint of traditional Chinese medicines (TCMs) and their classical prescriptions, and to carry out experimental verification. **Method:** The total statistical moment principle, Hardy-Weinberg equilibrium principle and one-time steady-state feeding quantity calculation method were used to study the total statistical moment parameters and one-time steady-state feeding quantity of 15 batches of original

[收稿日期] 20190124(012)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81573691,81703824,81874507);湖南省自然科学基金项目(2017JJ3236,2016JJ2097);湖湘中药资源保护与利用 2011 协同创新中心建设项目

[第一作者] 李海英,在读硕士,从事中药复方的生物有效性及其新制剂、新技术与新工艺研究,E-mail:1208666249@qq.com

[通信作者] *肖美凤,在读博士,讲师,从事中药及复方物质基础、中药超分子与定量网络药理学研究,Tel:0731-88458232,E-mail:xiaomf.002@163.com;

*贺福元,博士,教授,从事中药药剂学、超分子与定量网络药理学研究,Tel:0731-88458230,E-mail:pharmsharking@tom.com

medicinal materials, decoction pieces and compound preparations of Taohong Siwutang, these original medicinal materials were from three producing areas. **Result:** In addition to the total first-order moment, RSD of total zero-order moment, total second-order moment, information entropy and information amount of each medicinal material, decoction piece and compound were all greater than 10%. In the case of single original medicinal material, except for *Angelicae Sinensis Radix* (142.34 kg), the one-time steady-state feeding quantity calculated according to the RSD change of the accumulated information amount of the whole prescription was the largest (59.10 kg), and according to ratio of the whole prescription, one-time steady-state feeding quantity was the largest (958.57 kg). In the case of processed products, the one-time steady-state feeding quantity of the whole prescription was the largest (73.18 kg) except for *Carthami Flos* processed with wine (83.28 kg), while according to the whole prescription, one-time steady-state feeding quantity of each processed products was the same as that of the original medicinal material. The one-time steady-state feeding quantity of the compound consisted of the original medicinal materials or processed products was often higher than that of the single medicinal material. **Conclusion:** The components of TCM are controlled by genetic polymorphism, the chromatographic characteristics (types of components) of Chinese medicine is similar and the intensity of action (content of components) is different. The stability of total first-order moment and information entropy indicates that the overall chemical structure of TCM multi-component system has a stable imprinting trend. The one-time steady-state feeding quantities of each medicinal material in Taohong Siwutang and this compound are far greater than the prescription amount, which can provide reference for the industrial production.

[**Key words**] classical famous formulas; Taohong Siwutang; total statistical moment; one-time steady-state feeding quantity; uniformity; stability; fingerprint

2018 年 4 月 16 日国家中医药管理局发布了《古代经典名方目录(第一批)》,2018 年 6 月 1 日国家药品监督管理局发布了《古代经典名方中药复方制剂简化注册审批管理规定》的公告^[1],特别是国家“十三五”“重大新药创制”科技重大专项予以立项招标,这将会极大地促进古代经典名方中药复方制剂的研发及应用。中药经典名方复方制剂的质量研究比 6 类新药的要求更加严格,不仅强调制剂学工艺条件的优选,还强调制剂质量的均一性、稳定性和传递性。

众所周知,遗传是自然界生物子代延续的普遍现象,变异是生物体为了维持有机体正常生存条件和抵御外界不利环境因素而进行的一系列生命代谢活动^[2-3]。中药物质基准不仅受到产地、气候、制剂制备方法等外在因素的影响,还受到药材遗传多态性等内在因素影响。植物体初生代谢生成叶绿素、糖类、蛋白质等维持其生存所必需的初生代谢产物;次生代谢是为了某种应激反应或者适应生存环境的某种变化而生成许多中间体或最终产物,即中药有效成分。同一产地同一药材不同植株中药的成分会出现随机现象,微观物质基础不同会导致药材质量优劣的差异,只有在满足各品种一次稳态投药量的前提下,中药材质量才可能是稳定的,体现 Hardy-

Weinberg 平衡时的群体质量。目前,中药质量研究多沿用化药“一药一效”的研究模式,还没有与统计学相结合从宏观与微观上建立起一种评价方法;研究内容也主要集中于对道地性方面的研究,对药材遗传多态性研究尚且不足,尤其是以指纹图谱表征最终效应成分的信息熵与信息量的变化规律以及提取工艺的稳定性投料量方面^[4]。本课题组前期提出了总量统计矩及一次稳态投料量数学模型^[5-6],刘昌孝院士等提出了中药质量标志物的概念^[7]。本实验拟选择桃红四物汤为研究对象,通过对总量统计矩、单味药材及处方一次稳态投料量变化规律进行研究,旨在阐明中药遗传多态性对质量稳态性的影响规律,最终创立动态统计、宏观平衡、勾兑稳态的中药质量控制方法。

桃红四物汤作为《古代经典名方目录(第一批)》(下文简称目录)公布的 100 首经典名方之一,源自清·吴谦等所著的《医宗金鉴·妇科心法要诀》,功效活血养血、化瘀止痛^[8];临床主要治疗血瘀所致的月经不调、痛经、闭经、崩漏等诸多妇科疾病,还可用于内科、男科、皮肤科、眼科等疾病的治疗^[9]。该目录规定桃红四物汤的处方组成为生地黄三钱(酒洗),当归四钱(酒洗),白芍钱五分(酒炒),川芎一钱,桃仁十四粒(去皮尖研泥),红花一钱

(酒洗)。

1 实验原理

1 张含有 m 个中药成分的指纹图谱,各特征峰的面积由对应成分的构成比、色谱条件以及各成分对应的响应因子(灵敏度)决定。但在一定色谱条件下,只能出现部分特征峰,且峰面积不等。因此 1 个特征峰出现的概率是色谱系统适应性条件的综合反映,与其峰面积大小成反比,峰面积增大,峰与峰的分度降低,易发生重叠,使总峰数目降低,故可用峰面积百分比来表达各色谱峰在一定色谱条件下出现与否的概率。信息熵 ΔS_{ic} 反映了 1 个体系的混杂程度,可表示色谱峰出现的可能性,即色谱峰分离与不分离的程度,峰数目越多,其值越大,表征药材各成分的色谱学作用性质,见公式(1),式中 W_i 为第 i 个峰的峰面积百分比(出现的概率)。

$$\Delta S_{ic} = -1/\ln 2 \times \sum_{i=1}^m W_i \times \ln W_i \quad (1)$$

信息量等于信息熵乘以峰面积,表征色谱学上的作用强度,其值越大越好,最大信息量表示峰数目与峰面积在某一色谱条件下表达的信息最多,即各色谱峰既达到较好分离,峰面积也较大,亦当 $W_1 = W_2 = \dots = W_m$ 的情况下,信息量最大,见公式(2),式中 ΔS_{iq} 表示信息量, W_0 为中药提取物的进样量或取样量, A_T 为总响应面积。

$$\Delta S_{iq} = -A_T / (W_0 \times \ln 2) \times \sum_{i=1}^m W_i \times \ln W_i \quad (2)$$

中药材遗传多态性变化最终反映到成分的种类和含量的波动,反映到指纹图谱特征与非特征峰的变化,符合 Hardy-Weinberg 平衡定律。对于某一产地的药材,当以大于一定量的样本投料量投料时,其指纹图谱信息处于稳定,即以大于此量进行勾兑,则中药成分指纹图谱信息处于稳定,若以小于此量进行勾兑,则中药成分指纹图谱处于波动之中,其成分在一定的上下限进行波动,说明中药成分的波动上下限与投料量相关。其稳态时(上限与下限接近)的投料量按公式(3)计算,式中 n 为投料植株数,也可称之为测试“单位”; ΔS_{iq} 为中药成分平均信息量, S 为标准差, $t_{\alpha, n-1}$ 为界值为 α 时的 t 检验界值, u_β 为犯 II 型假阴性错误概率对应正态累积概率分布函数的可信限, $\Delta S_{i, iq}$ 为第 i 个峰的信息量。根据制剂有效期的规定,认为药物成分变化的差值不低于原值的 10% 时,质量是稳定的,依据 $\Delta S_{i, iq} - \Delta S_{iq} \leq \Delta S_{iq} \cdot 10\%$, 则公式(3)变为公式(4)。

$$\sqrt{n} \geq \frac{(t_{\alpha, n-1} + u_\beta) \times S}{|\Delta S_{i, iq} - \Delta S_{iq}|} \quad (3)$$

$$\sqrt{n} \geq \frac{(t_{\alpha, n-1} + u_\beta) \times S}{10\% \times \Delta S_{i, iq}} \quad (4)$$

$S / \Delta S_{i, iq}$ 为变异系数,即 RSD, 当 $\alpha = 0.05, \beta = 0.05$ 时, $t_{\alpha, n-1} + u_\beta = 10.8$, 也就是置信系数为 0.05 时,质量控制在有效期含量规定内,可变为 $n \geq 108^2 \times RSD^2$ 。投料的单元数 n 乘以单元数的平均质量 W_0 , 即为单味饮片稳态的最少投药量 $W, W \geq n \times W_0$ 。中药复方一次稳态投料量,即中药复方一次勾兑的最少量。由单味药材指纹图谱信息量的波动大小可确定每味药材的稳态投料量,根据处方的比例计算整个复方的总稳态投料量 Y , 见公式(5)。

$$Y = \frac{B_1}{B_i} A_i + \frac{B_2}{B_i} A_i + \frac{B_3}{B_i} A_i + \dots + \frac{B_m}{B_i} A_i \quad (5)$$

式中 m 为处方中药材的个数,处方质量为 $B_1, B_2, B_3, \dots, B_m$; 通过分析药材指纹图谱信息量计算出各药材的稳态投料量为 $A_1, A_2, A_3, \dots, A_m$ 。首先对各药材的稳态投料量按大小排序,选择最大者,记为 A_i , 该药材的处方用量为 B_i 。以 A_i 作为基准,按处方比例依次放大其他药材的一次稳态投料量,同时与药材单独使用的一次稳态投料量比对,当发现处方用的一次稳态投料量小于单独使用的一次稳态投料量,应以单独使用的一次稳态投料量按比例放大到全方后,再得到全方的稳态投料量 Y , 这是进行中药复方勾兑用量的数学理论基础,是实现中药复方稳态均一的关键科学问题。

2 材料

2695 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司), MA110 型电子天平(上海良平仪器仪表有限公司), TGL-16C 型高速台式离心机(上海安亭科学仪器厂), RE52AA 型旋转蒸发器(上海雅荣生化设备仪器有限公司)。白芍为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* 的干燥根(产地为安徽蒙城县、四川中江县以及安徽十九里镇), 川芎为伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* 的干燥根茎(产地为四川彭州、四川德州、四川都江堰), 当归为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* 的干燥根(产地为甘肃岷县、甘肃渭源县、甘肃宕昌县), 红花为菊科植物红花 *Carthamus tinctorius* 的干燥花(产地为河南辉县、四川西昌县、新疆裕民县), 生地黄为玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* 的新鲜或干燥块根(产地为河南武陟县、河南沁阳县、河南孟县), 桃仁为蔷薇科植物桃 *Prunus persica* 的干燥成熟种子(产地为河北保定县、河北丰宁县、山东费县), 上述药材每产地

各有 5 批,均经湖南中医药大学鉴定教研室刘塔斯教授鉴定,符合 2015 年版《中国药典》(一部)相关项下要求。盐酸川芎嗪、阿魏酸、芍药苷、苦杏仁苷、毛蕊花糖苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110817-201608, 110773-201313, 110736-201741, 110820-201607, 111530-201512, 纯度依次为 83.4%, 99.6%, 95.7%, 90.7%, 96.7%), 羟基红花黄色素 A 对照品(上海源叶生物科技有限公司,批号 R25A9F59977, 纯度 98.4%), 黄酒(武汉市浙湖桑港酒业有限公司,产品标准号 GB/13662), 水为超纯水, 乙腈、甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

3 方法与结果

3.1 药材溶液的制备

3.1.1 桃红四物汤全方溶液 取 1/3 处方量药材,即生地黄 3.13 g, 当归 4.16 g, 白芍 1.56 g, 川芎 1.04 g, 红花 1.04 g, 桃仁 1.04 g(约 5 粒), 水煎煮 1 次。加 10 倍量水浸泡 30 min, 武火煮沸后, 文火回流提取 1 h, 趁热抽滤药材提取液, 滤液用旋转蒸发器(70 ℃)减压浓缩至约 5 mL, 加入一定体积 95% 乙醇至含醇量为 85%, 放置 24 h 以上, 抽滤, 上清液用旋转蒸发器(60 ℃)回收乙醇至无醇味, 加水稀释至生药质量浓度为 1 g·mL⁻¹, 作为供试液。

3.1.2 单味药材溶液 取单味药材(当归、白芍、川芎、桃仁、生地黄)约 10 g, 加 10 倍量水浸泡 30 min 后同 3.1.1 项下方法提取 1 h, 趁热抽滤, 滤液加 95% 乙醇至含醇量达 85%, 静置 24 h 以上, 抽滤, 滤液回收乙醇并浓缩至生药质量浓度约 1 g·mL⁻¹; 红花加入 15 倍量水回流提取, 其他步骤与上述操作一致; 得单味药材的供试液。

3.1.3 单味炮制品溶液^[10] 药材需要炮制的有白芍、当归、红花和生地黄。参照 2015 年版《中国药典》(四部)炮制通则酒炙法, 固定黄酒用量为药材量的 10%。每 100 kg 白芍药材用黄酒 10 kg, 置炒制容器内, 用文火炒至规定的程度时, 取出, 放凉, 得酒炒白芍。当归和生地黄药材分别加 10% 黄酒润透, 切片, 烘干(60 ℃), 分别得酒洗当归、酒洗生地黄。红花药材加 10% 黄酒浸泡后烘干(60 ℃), 即得酒洗红花。各炮制品按 3.1.2 项下相应药材的方法提取, 得单味炮制品的供试液。

3.2 对照品溶液的制备

3.2.1 单成分对照品溶液 分别精密称取盐酸川芎嗪, 阿魏酸, 羟基红花黄色素 A, 芍药苷, 毛蕊花糖苷和苦杏仁苷 4.93, 5.22, 5.09, 5.03, 5.12, 4.87 mg, 依次加 70% 甲醇, 70% 甲醇, 甲醇, 甲醇,

甲醇, 70% 甲醇定容至 5 mL, 分别制成质量浓度约为 1 g·L⁻¹ 的对照品溶液。

3.2.2 混合对照品溶液 分别精密吸取盐酸川芎嗪, 阿魏酸, 羟基红花黄色素 A, 芍药苷, 毛蕊花糖苷和苦杏仁苷对照品溶液适量, 充分混合后加甲醇定容, 得混合对照品溶液, 各成分终质量浓度分别为 0.16, 0.17, 0.17, 0.17, 0.17, 0.16 g·L⁻¹。

3.3 色谱条件 Waters C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈(A)-0.4% 磷酸水溶液(B)梯度洗脱(0 ~ 10 min, 100% B; 10 ~ 20 min, 100% ~ 93% B; 20 ~ 25 min, 93% ~ 87.5% B; 25 ~ 35 min, 87.5% ~ 82% B; 35 ~ 50 min, 82% ~ 75% B; 50 ~ 60 min, 75% ~ 70% B; 60 ~ 61 min, 70% ~ 100% B), 柱温 25 ℃, 流速 1 mL·min⁻¹, 检测波长 264 nm, 进样量 5 μL。

3.4 方法学考察

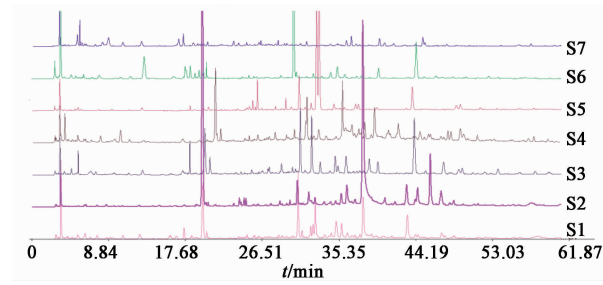
3.4.1 精密度试验 按 3.1.1 项下方法制备供试液, 取同一样品溶液按 3.3 项下条件连续进样 6 次, 以芍药苷为参照峰, 计算共有指纹峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均 < 2.0%, 说明仪器精密度符合要求。

3.4.2 稳定性试验 按 3.1.1 项下方法制备供试液, 取同一样品溶液分别在制备后 1, 2, 4, 6, 12, 24 h 按 3.3 项下条件测定, 以芍药苷为参照峰, 计算共有指纹峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均 < 2.5%, 说明样品溶液在 24 h 内稳定性良好。

3.4.3 重复性考察 按 3.1.1 项下方法制备供试液, 取同一批次桃红四物汤 6 份, 分别按 3.3 项下条件测定, 计算共有指纹峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均 ≤ 3.0%, 说明该方法的重复性符合要求。

3.5 HPLC 指纹图谱分析 取 3.1 项下各供试液适量, 按 3.3 项下条件测定, 见图 1, 2。

3.6 HPLC 指纹图谱的总量统计矩参数、信息熵、信息量和一次投料量 总量统计矩参数按文献[5]所载方法计算, 信息熵、信息量按公式(1)和(2)计算, 见表 1。结果各样品峰数、峰面积、总量一阶矩、总量二阶矩、信息熵、信息量的平均值分别为 121.91 个, 7.19 × 10⁷, 29.84 min, 176.03 min² 和 -3.45, -2.47 × 10⁸, RSD 分别为 19.8%, 53.4%, 10.8%, 33.0%, 19.9%, 57.3%。说明总量统计矩参数、信息熵、信息量均能很好地区别各药材属性, 不同的药材有不同的总量统计矩参数、信息熵与信息量。根据各药材信息量的 RSD 大小、操作单位及处方量计算得到单味药材及处方用量一次稳态

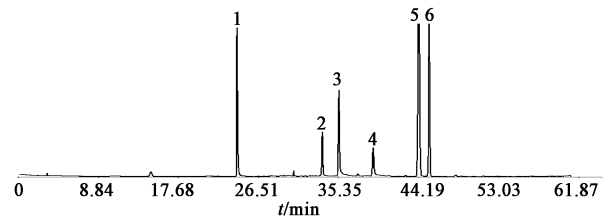


S1. 桃红四物汤; S2. 白芍; S3. 川芎; S4. 红花; S5. 桃仁; S6. 当归; S7. 生地黄

图 1 桃红四物汤及其单味药材的 HPLC 指纹谱

Fig. 1 HPLC fingerprint of Taohong Siwutang and its single herbs

投料量,见表 2。结果发现按单味药材投料,川芎一次投料量最少(13.52 kg),而当归最大(142.34 kg),按全方累积信息量的 RSD 变化,需投



1. 阿魏酸; 2. 苦杏仁苷; 3. 毛蕊花糖苷; 4. 芍药苷; 5. 盐酸川芎嗪; 6. 羟基红花黄色素 A

图 2 混合对照品溶液的 HPLC 指纹谱

Fig. 2 HPLC fingerprint of mixed reference solution

59.10 kg;而按全方的比例投料,川芎、红花、桃仁一次投料量最少,均需投 83.28 kg,当归需投 333.14 kg,全方需投 958.57 kg,说明单味药材一次稳态投料量与全方一次稳态投料量不相等。

表 1 桃红四物汤及其单味药材 HPLC 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 1 Total statistical moment parameters, information entropy and information amount of fingerprint of Taohong Siwutang and its single herbs($\bar{x} \pm s, n = 15$)

| 样品 | 峰数/个 | 峰面积 | 总量一阶矩/min | 总量二阶矩/min ² | 信息熵 | 信息量 |
|-------|----------------|---------------------------------|--------------|------------------------|--------------|----------------------------------|
| 白芍 | 77.60 ± 28.63 | (1.17 ± 0.55) × 10 ⁸ | 31.85 ± 0.80 | 118.83 ± 12.20 | -2.36 ± 0.15 | -(2.76 ± 1.30) × 10 ⁸ |
| 川芎 | 132.87 ± 18.36 | (5.00 ± 1.46) × 10 ⁷ | 31.42 ± 2.34 | 176.13 ± 28.83 | -3.73 ± 0.24 | -(1.88 ± 0.64) × 10 ⁸ |
| 当归 | 118.47 ± 24.95 | (7.32 ± 7.34) × 10 ⁷ | 26.85 ± 2.53 | 240.35 ± 55.75 | -3.40 ± 0.26 | -(2.64 ± 2.92) × 10 ⁸ |
| 红花 | 147.47 ± 17.87 | (7.40 ± 3.62) × 10 ⁷ | 33.27 ± 2.46 | 186.65 ± 27.68 | -4.08 ± 0.24 | -(3.05 ± 1.51) × 10 ⁸ |
| 生地黄 | 115.60 ± 30.64 | (1.26 ± 0.85) × 10 ⁷ | 24.17 ± 3.99 | 234.36 ± 79.27 | -3.95 ± 0.24 | -(5.06 ± 3.60) × 10 ⁷ |
| 桃仁 | 114.27 ± 24.28 | (5.45 ± 2.33) × 10 ⁷ | 31.67 ± 2.42 | 81.11 ± 12.39 | -2.66 ± 0.18 | -(1.46 ± 0.69) × 10 ⁸ |
| 桃红四物汤 | 147.07 ± 13.54 | (1.22 ± 0.80) × 10 ⁸ | 29.67 ± 3.04 | 194.77 ± 38.50 | -3.98 ± 0.23 | -(4.99 ± 3.55) × 10 ⁸ |

表 2 15 批桃红四物汤及其单味药材指纹图谱总量统计矩参数、信息熵、信息量的 RSD 及一次稳态投料量

Table 2 RSD of total statistical moment parameters, information entropy, information amount and one-time steady-state feeding quantity of fingerprint of Taohong Siwutang and its single herbs

| 样品 | 峰数 RSD/% | 峰面积 RSD/% | 总量一阶矩 RSD/% | 总量二阶矩 RSD/% | 信息熵 RSD/% | 信息量 RSD/% | 操作单位 /g | 一次稳态投料量/kg | 处方用量 /g | 一次稳态处方投料量/kg |
|-------|----------|-----------|-------------|-------------|-----------|-----------|---------|------------|---------|--------------|
| 白芍 | 36.89 | 47.05 | 2.50 | 10.27 | 6.20 | 47.21 | 10.00 | 26.00 | 1.56 | 124.93 |
| 川芎 | 13.82 | 29.28 | 7.46 | 16.37 | 6.46 | 34.04 | 10.00 | 13.52 | 1.04 | 83.28 |
| 当归 | 21.06 | 100.34 | 9.43 | 23.19 | 7.69 | 110.47 | 10.00 | 142.34 | 4.16 | 333.14 |
| 红花 | 12.12 | 48.94 | 7.38 | 14.83 | 5.76 | 49.51 | 10.00 | 28.59 | 1.04 | 83.28 |
| 生地黄 | 26.51 | 67.71 | 16.52 | 33.83 | 5.96 | 71.05 | 10.00 | 58.88 | 3.13 | 250.65 |
| 桃仁 | 21.25 | 42.81 | 7.63 | 15.28 | 6.90 | 47.16 | 10.00 | 25.94 | 1.04 | 83.28 |
| 桃红四物汤 | 9.21 | 65.52 | 9.85 | 19.77 | 5.78 | 71.18 | 11.97 | 59.10 | 11.97 | 958.57 |

3.7 桃红四物汤单味药材炮制品和复方制剂一次稳态投料量研究 各饮片 HPLC 指纹图谱的总量统计矩参数、信息熵、信息量见表 3。结果各样品峰数,峰面积,总量一阶矩,总量二阶矩,信息熵,信息

量的平均值分别为 124.53 个, 6.48 × 10⁷, 29.71 min, 175.51 min², -3.46, -2.18 × 10⁸, RSD 分别为 18.4%, 56.8%, 9.20%, 32.7%, 19.1%, 54.8%, 说明除总量一阶矩外,其他参数的 RSD

均 >10%,能区分各药材的炮制品。按公式(5)计算桃红四物汤单味药材炮制品和复方制剂一次稳态投料量,见表 4。结果发现按单味药材投料,川芎一次投料量最少(13.52 kg),而酒红花需 83.28 kg,全方需 73.18 kg。如同原药材一样,单味饮片的一次

稳态投料量不同于复方中各药材的一次稳态投料量。按复方指纹图谱的 RSD 测算的一次投料量远少于计算的 958.57 kg,尽管按处方计算的各药材一次稳态投料量较累积的全方一次投料量较大,但能保证药物成分均一、稳定。

表 3 桃红四物汤及其单味饮片 HPLC 指纹图谱的总量统计矩参数、信息熵、信息量($\bar{x} \pm s, n = 15$)

Table 3 Total statistical moment parameters, information entropy and information amount of fingerprint of Taohong Siwutang and its single decoction pieces($\bar{x} \pm s, n = 15$)

| 样品 | 峰数/个 | 峰面积 | 总量一阶矩/min | 总量二阶矩/min ² | 信息熵 | 信息量 |
|-----------|----------------|---------------------------------|--------------|------------------------|--------------|----------------------------------|
| 酒白芍 | 77.53 ± 35.62 | (1.25 ± 0.66) × 10 ⁸ | 30.95 ± 1.51 | 118.84 ± 79.67 | -2.48 ± 0.29 | -(2.96 ± 1.92) × 10 ⁸ |
| 川芎 | 132.87 ± 18.36 | (5.00 ± 1.46) × 10 ⁷ | 31.42 ± 2.34 | 176.13 ± 28.83 | -3.73 ± 0.24 | -(1.88 ± 0.64) × 10 ⁸ |
| 酒当归 | 126.20 ± 34.29 | (3.42 ± 0.20) × 10 ⁷ | 26.17 ± 3.10 | 251.85 ± 62.87 | -3.36 ± 0.33 | -(1.19 ± 0.70) × 10 ⁸ |
| 酒红花 | 138.73 ± 37.83 | (1.03 ± 0.82) × 10 ⁸ | 32.50 ± 1.71 | 202.09 ± 45.01 | -4.11 ± 0.38 | -(4.35 ± 3.68) × 10 ⁸ |
| 酒生地黄 | 142.47 ± 18.91 | (2.25 ± 0.95) × 10 ⁷ | 25.70 ± 2.23 | 201.39 ± 49.13 | -4.10 ± 0.35 | -(9.28 ± 3.89) × 10 ⁷ |
| 桃仁 | 114.27 ± 24.28 | (5.45 ± 2.33) × 10 ⁷ | 31.67 ± 2.42 | 81.11 ± 12.39 | -2.66 ± 0.18 | -(1.46 ± 0.69) × 10 ⁸ |
| 桃红四物汤(饮片) | 139.67 ± 18.98 | (6.46 ± 5.09) × 10 ⁷ | 29.53 ± 3.12 | 197.13 ± 35.90 | -3.79 ± 0.23 | -(2.50 ± 1.98) × 10 ⁸ |

表 4 15 批桃红四物汤饮片及其单味药材饮片指纹图谱总量统计矩参数、信息熵、信息量的 RSD 及一次稳态投料量

Table 4 RSD of total statistical moment parameters, information entropy, information amount and one-time steady-state feeding quantity of fingerprint of Taohong Siwutang and its single decoction pieces

| 样品 | 峰数 RSD/% | 峰面积 RSD/% | 总量一阶矩 RSD/% | 总量二阶矩 RSD/% | 信息熵 RSD/% | 信息量 RSD/% | 操作单位 /g | 一次稳态投料量 /kg | 处方用量 /g | 一次稳态处方投料量 /kg |
|-----------|----------|-----------|-------------|-------------|-----------|-----------|---------|-------------|---------|---------------|
| 酒白芍 | 45.94 | 53.18 | 4.87 | 67.04 | 11.65 | 65.04 | 10.00 | 49.34 | 1.56 | 124.93 |
| 川芎 | 13.82 | 29.28 | 7.46 | 16.37 | 6.46 | 34.04 | 10.00 | 13.52 | 1.04 | 83.28 |
| 酒当归 | 27.17 | 57.51 | 11.83 | 24.96 | 9.96 | 59.16 | 10.00 | 40.82 | 4.16 | 333.14 |
| 酒红花 | 27.27 | 79.75 | 5.27 | 22.27 | 9.16 | 84.50 | 10.00 | 83.28 | 1.04 | 83.28 |
| 酒生地黄 | 13.27 | 42.32 | 8.68 | 24.39 | 8.55 | 41.91 | 10.00 | 20.49 | 3.13 | 250.65 |
| 桃仁 | 21.25 | 42.81 | 7.63 | 15.28 | 6.90 | 47.16 | 10.00 | 25.94 | 1.04 | 83.28 |
| 桃红四物汤(饮片) | 13.59 | 78.81 | 10.57 | 18.21 | 6.19 | 79.21 | 11.97 | 73.18 | 11.97 | 958.57 |

4 讨论

由于中药材具有生物多样性,质量属性处于动态变化之中,其成分种类变化小,但含量波动大,其色谱峰数目、总量零阶矩、总量二阶矩、信息熵、信息量差异大,而总量一阶矩差异小,单从成分种类和含量控制中药质量难以实现。《中药注册管理补充规定》第七条明确规定,经典名方的生产工艺与传统工艺基本一致,如何实现“基本一致”是中药经典名方生产工艺研究的关键和核心问题^[11]。中药经典名方生产工艺“基本一致”包括投料用饮片质量一致和生产工艺条件一致。只有 2 个一致性规律都得到阐明,才能全面阐明物质基准和制剂质量属性传递规律。

本研究分析指纹图谱总量统计矩及其信息熵、信息量,可以阐明不同批次中药成分种类与含量的动态变化规律;再运用 Hardy-Weinberg 平衡群体一次稳态投料量理论,可建立中药稳态提取工艺的数学模型^[12],从而实现中药复方制剂的均一、稳定。复方的一次稳态投料量经常大于各单味原药材与炮制品的一次稳态投料量,揭示中药复方配伍过程中成分间可能发生络合、吸附、沉淀等反应,使得其比单味药材质量更难控制。总量统计矩分析法是指纹图谱定性、定量的分析方法之一,其总量零阶矩表示作用强度,可用于定量分析;总量一阶矩与总量二阶矩表示作用特征,可用于定性分析。一次稳态投料量表示各产地各药材的平衡群体成分构成比和含量

达稳态时需要的最小投料单元,当大于这个临界值时,药材整体质量处于统计学上的稳定状态。

综上所述,根据总量统计矩、信息量及一次稳态投料量可实现中药生产的均一性和稳定性;若再与量值传递规律结合,可以全面准确揭示“药材-饮片-物质基准”成分传递关系,进一步实现可传递性;若与药材质量标志物——“分子拓扑指数”结合^[13],可建立起成分与疗效间的关系;若进一步与超分子“印迹模板”理论结合,建立起方与证之间的“钥匙”对应关系,最终可望实现中药经典名方的二次开发^[14]。

[参考文献]

[1] 邓哲,刘德文,杜杰,等. 经典名方研发建议的梳理和探讨[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,doi:10.13422/j.cnki.syfjx.20190554.

[2] 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.

[3] 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.

[4] 贺福元,周宏灏,罗杰英,等. 谨防中药材 GAP 忽视生物遗传多态性规律的研究[J]. 湖南中医药大学学报,2007,27(S1):205-211.

[5] 贺福元,周宏灏,邓凯文,等. 指纹图谱的一种定性定量研究新方法:总量统计矩分析法[J]. 药学学报,2008,43(2):195-201.

[6] 贺福元,邓凯文,黄胜,等. 中药群体指纹图谱信息量和一次投料量数学模型的建立及对大黄和鱼腥草实验研究[J]. 中成药,2011,33(8):1292-1298.

[7] 刘昌孝,陈士林,肖小河,等. 中药质量标志物(Q-Marker):中药产品质量控制的新概念[J]. 中草药,2016,47(9):1443-1457.

[8] 王飞龙,韩岚,樊玲,等. 桃红四物汤对实验性脑缺血大鼠血清中 ET-1,Ang-1,VEGF 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(1):101-106.

[9] 张正升,彭代银. 桃红四物汤临床应用研究进展[J]. 安徽医药,2011,15(9):1162-1165.

[10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 四部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:31.

[11] 杨立伟,王海南,耿莲,等. 基于标准汤剂的中药整体质量控制模式探讨[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(8):1-6.

[12] 刘文龙,张喜利,贺福元,等. 稳态提取工艺中平衡群体的研究及对鱼腥草的实验验证[J]. 中国中药杂志,2011,36(21):2950-2955.

[13] LIU W L,ZHANG X L,FAN S Q, et al. A novel concept of Q-markers: molecular connectivity index [J]. Phytomedicine,2018,45:36-40.

[14] 肖美凤,张雨恬,杨岩涛,等. 基于鱼腥草挥发性成分动态性的中药制剂“印迹模板”一致性分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2019,doi:10.13422/j.cnki.syfjx.20190446.

[责任编辑 刘德文]