

本文引用: 欧阳少琴, 陈宇霞, 黄晨存, 杨学斌, 李 萍, 贺福元. 13 味归肺经中药 UPLC 指纹图谱特征及“印迹模板”成分簇划分的研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2022, 42(10): 1669-1676.

13 味归肺经中药 UPLC 指纹图谱特征及“印迹模板”成分簇划分的研究

欧阳少琴^{1,2}, 陈宇霞^{1,2}, 黄晨存^{1,2}, 杨学斌^{1,2}, 李 萍^{1,2}, 贺福元^{1,2,3,4,5*}

(1. 湖南中医药大学药学院, 湖南 长沙 410208; 2. 中药成药性与制剂制备湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410208; 3. 湖南中医药大学中药炮制与制剂制备工程技术实验室, 湖南 长沙 410208; 4. 湖南中医药大学中医药超分子机理与数理特征化实验室, 湖南 长沙 410208; 5. 中药药性与药效国家中医药管理局重点实验室, 湖南 长沙 410208)

〔摘要〕 **目的** 对 13 味归肺经中药的 UPLC 指纹图谱特征进行研究, 探究其“印迹模板”成分簇特征和划分方法, 为寻找中药归肺经的物质基础研究方法提供参考。 **方法** 采用 UPLC 建立白前、百部、苍耳子、芥子、金荞麦、桔梗、款冬花、马勃、前胡、桑白皮、射干、鱼腥草、紫菀 13 味归肺经中药的指纹图谱, 并用总量统计矩、信息熵与信息量进行特征分析; 采用匹配频数法划分“印迹模板”成分簇, 寻找可能的归肺经的物质基础。 **结果** 13 味归肺经中药的 UPLC 指纹图谱平均色谱峰数为 80 个, RSD 为 33.18%; 总量统计零阶矩、一阶矩、二阶矩、相似度、信息熵、信息量分别为 19 230 $\mu\text{A}\cdot\text{s}$ 、27.21 min、435.0 min^2 、0.551 7、4.260 bit、70 234 bit, RSD 分别为 104.10%、81.98%、74.61%、41.22%、20.66%、89.72%, 结果表明归肺经中药成分簇差异显著; 按置信系数为 0.05 确定 13 味中药的匹配最低频数为 7.35 次; 由此可划得 30 个归肺经的“印迹模板”成分簇, 构成新指纹图谱, 以 3.801 min(6 号峰)的 RSD 最小, 为 79.70%, 以 9.279 min(24 号峰)最大, 为 344.9%, 平均 RSD 为 164.7%, 30 个成分簇 RSD 的 RSD 为 46.05%。 **结论** 13 味归肺经中药成分簇的 UPLC 指纹图谱相似度不高, 成分簇“印迹模板”变异较大, 其中前胡成分簇“印迹模板”相差最大, 而百部、桔梗的色谱峰数较少, 信息熵也不高, 并与平均相似度接近, 是进一步研究归肺经成分簇“印迹模板”的较好模型药物, 同时, 金荞麦、桑白皮、射干、鱼腥草均含黄酮类成分, 也是研究归肺经物质基础适宜的模型中药。

〔关键词〕 中药归经; 肺经; 超分子“印迹模板”; 成分簇; 指纹图谱; 总量统计矩; UPLC; 信息熵; 匹配频数法

〔中图分类号〕 R285.5

〔文献标志码〕 A

〔文章编号〕 doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2022.10.013

Characteristics of UPLC fingerprints and division of "imprinting templates" component clusters of 13 Chinese materia medicas returning to lung meridian

OUYANG Shaoqin^{1,2}, CHEN Yuxia^{1,2}, HUANG Chencun^{1,2}, YANG Xuebin^{1,2}, LI Ping^{1,2}, HE Fuyuan^{1,2,3,4,5*}

(1. College of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. Hunan Key Laboratory of Druggability and Preparation Modification of TCM, Changsha, Hunan 410208, China; 3. Engineering Technological Laboratory of Processing and Pharmaceutical Preparation of TCM, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 4. Laboratory of Supramolecular Mechanism and Mathematic-Physics Characterization for TCM, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 5. Key Laboratory of Property and Pharmacodynamics of TCM, State Administration of TCM, Changsha, Hunan 410208, China)

〔Abstract〕 Objective To study the characteristics of UPLC fingerprints of 13 Chinese materia medicas (CMMs) returning to lung meridian, and to explore the characteristics and classification method of "imprinting templates" component cluster, so as to

〔收稿日期〕 2021-08-31

〔基金项目〕 国家自然科学基金项目(81573691, 81874507); 湖南省大学生创新创业训练计划项目(S202010541043)。

〔第一作者〕 欧阳少琴, 女, 本科生, 研究方向: 中医药超分子与数理特征化的研究。

〔通信作者〕* 贺福元, 男, 教授, 博士研究生导师, E-mail: pharmsharking@tom.com。

provide reference for methodology research on material bases of meridian tropism of TCM. **Methods** UPLC was used to establish the fingerprints of 13 CMMs: Baiqian (*Cynanchi Stauntonii Rhizoma Et Radix*), Baibu (*Stemonae Radix*), Cang'erzi (*Xanthii Fructus*), Jiezi (*Sinapis Semen*), Jinqiaomai (*Fagopyri Dibotryis Rhizoma*), Jiegeng (*Platycodonis Radix*), Kuandonghua (*Farfarae Flos*), Mabo (*Lasiosphaera Calvatia*), Qianhu (*Peucedani Radix*), Sangbaipi (*Mori Cortex*), Shegan (*Belamcandae Rhizoma*), Yuxingcao (*Houttuyniae Herba*), and Ziwan (*Asteris Radix Et Rhizoma*); their characteristics were analyzed by total statistical moment, information entropy and information quantity; the matching frequency method was used to divide the component cluster of "imprinting templates" to find the possible material bases returning to lung meridian. **Results** The average number of chromatographic peaks was 80 and RSD was 33.18% of UPLC fingerprints of 13 CMMs; the total statistics parameters of zero, first and second moments, similarity, information entropy and amount of information were 19 230 μ A·s, 27.21 min, 435.0 min², 0.551 7, 4.260 bit, 70 234 bit and RSD were 104.10%, 81.98%, 74.61%, 41.22%, 20.66% and 89.72% respectively, and the results showed that there were significant differences among the components returning to lung meridian; the lowest matching frequency of 13 CMMs was 7.35 times according to the confidence coefficient of 0.05; thus, 30 component clusters of "imprinting templates" returning to the lung meridian could be classified to form a new fingerprint that the RSD of 3.801 min (peak 6) was the least with 79.70%, and that of 9.279 min (peak 24) was the largest with 344.9%, the average RSD being 164.7%, and the 30 component clusters RSD of its RSD was 46.05%. **Conclusion** The similarity of UPLC fingerprints of 13 CMMs component clusters returning to lung meridian is not high, and the "imprinting templates" of component clusters varies greatly with different CMMs, among which, the difference of "imprinting templates" of the Qianhu (*Peucedani Radix*) component cluster is the largest. The number of chromatographic peaks of Baibu (*Stemonae Radix*) and Jiegeng (*Platycodonis Radix*) is less, and the information entropy is not high, being close to the average similarity. They are better model drugs for further study of "imprinting templates" of the component clusters returning to lung meridian. At the same time, the Jinqiaomai (*Fagopyri Dibotryis Rhizoma*), Sangbaipi (*Mori Cortex*), Shegan (*Belamcandae Rhizoma*), Yuxingcao (*Houttuyniae Herba*), of which contain flavonoids in all, are also suitable model drugs for studying the material bases returning to lung meridian.

[**Keywords**] meridian tropism of Chinese materia medica; lung meridian tropism; supramolecular imprinting templates; component clusters; chromatographic fingerprint; total statistical moment; UPLC; information entropy; matching frequency method

中药归经理论是中药药性理论的重要组成部分,历代中医学家用其指导临床遣方用药,提高疗效^[1]。其理论萌芽于先秦,形成于秦汉,成熟于宋元,直到金元时期易水学派的开山祖师张元素,在临床经验的基础上,对脏腑辨证和药物配方进行了详细总结研究,才提出“药物归经”和引经之说^[2]。中药归经是临床上用来标明药物的作用部位,归是走向、归属的涵义,有定向、定位的概念;经包括经络,也包括脏腑及脏腑病变证候群;二者共同表示出药物对人体特定部位有识别的选择性作用^[3]。因此,中药归经理论用现代科学语言表征就是生物超分子“印迹模板”选择性作用规律^[4]。

超分子“印迹模板”^[5-6]是主客分子间有效作用原子基团点阵的空域,体现出自识别、自组装、自组织和自复制的分子间自律作用规律,据此,本团队前期创立了中医药超分子“气析”理论^[7],用于破解中医药理论现代化面临的3个重大前沿科学问题。作为

超分子“印迹模板”客体物质的中药,进入人体后,能发挥识别、组装、组织等一系列调节功能,从而寻找到符合超分子“印迹模板”理论的超分子主体物质,即与客体物质具有相似空间结构并在特定条件下发生相互作用,从而产生针对人体经络脏腑的特异性药效,自然宏观上表现出了中药归经现象,因此,中医药“印迹模板”“气析”理论是指导研究中药归经理论适宜的现代科学工具。

有鉴于此,本文以全国中医药行业高等教育“十三五”规划教材《中药学》为基本标准^[8],遴选出只归肺经的13味中药,分别是白前、百部、苍耳子、芥子、金荞麦、桔梗、款冬花、马勃、前胡、桑白皮、射干、鱼腥草、紫菀,进行指纹图谱印迹性研究,根据具有相同(似)的“印迹模板”成分簇,具有相似的结构特征,作用于相似的经络脏腑,在色谱学上表现为具有相同(似)的印迹作用,其指纹图谱特征相同(似),在指纹图谱分析评价系中进行匹配就会出现以“印迹模

板”成分簇为中心的指纹峰聚集现象,出现保留时间与匹配频数呈凹凸状分布,据此可用匹配频数法进行“印迹模板”成分簇划归,以确定归肺经可以存在的“印迹模板”,为后续的归肺经的物质基础研究奠定基础^[9]。在进行中药“印迹模板”研究时,可采用总量统计矩法、信息熵与信息量量化表征其印迹性,从而可定量分析归肺经成分簇总体分布特征。

1 实验方法

1.1 基本理论

1.1.1 中药指纹图谱印迹性的分析和划分方法 中药指纹图谱的分析方法较多^[10],一般关注色谱峰的含量变化,较少关注成分的印迹性变化。由于中药成分受到原植物遗传和地域的影响,表现出成分簇和含量的随域变化,表现出成分变化与疗效变化的不对称性,因此用控制成分的种类和含量来研究中药物质基础不易成功^[11-12],为此,本团队前期创立了能表征中药成分簇印迹效果的指纹图谱分析方法:总量统计矩(相似度)法^[13]。该法包括总量零阶矩,表示总成分簇印迹量;总量一阶矩,表示总成分簇印迹度;总量二阶矩,表示总成分簇印迹度的方差;由总量一阶矩、二阶矩转变成正态概率密度函数,建立起具有统计性的相似度法。因此,中药归肺经成分簇的“印迹模板”作用特征,即对肺经的选择性就可以用总量统计矩表征,总量统计矩参数越近,其印迹度越似,在总印迹量不变的情况下,其成分簇归肺经的可能性就越高^[14]。中药材指纹图谱上每个峰对应一个以上化学成分,中药成分复杂多样,每个化学成分可看作一个离散值,峰的强度即表明其化学信息显现的概率,其受色谱条件、药材成分相互作用等的综合反映,因此将每一成分看成一个信息元,则可用信息熵表征一张指纹图谱的信息载荷特征^[15-17],通过计算和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。再乘以总峰面积就能转变成信息量,表征整个指纹图谱信息容量大小^[18]。

另外,中药成分修饰成最接近“印迹模板”结构特征的成分的概率较大,出现的频率较高,而修饰成远离“印迹模板”结构特征的成分的概率较小,出现的频率较小,在色谱学上表现出以最接近“印迹模板”结构特征成分为中心的簇状分布特征和以指纹

图谱色谱峰对保留时间的凸凹状分布,其分离度的大小表示“印迹模板”的相似程度,与匹配频数相关。通过对指纹图谱色谱峰匹配时共同出现的频数进行统计学分析,取频数的均数与一定置信度下的统计量乘以标准差的积之和为界值确定“印迹模板”数目。

将S个样品的指纹图谱导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统,进行校正、匹配和数据导出,获得总色谱峰数 S_p 、各色谱峰的保留时间、各样本峰面积、对照指纹图谱峰面积、保留时间RSD、峰面积RSD和匹配数 N_{pc} ,其中匹配数就是“印迹模板”成分簇对应一定保留时间共同出现色谱峰的数目,由中药色谱指纹图谱相似度评价系统给出。可先对所纳入的指纹图谱的匹配频数进行统计分析,求算平均匹配频数和标准差,设定置信系数,按式(1)计算出划成“印迹模板”成分匹配频数的最低界值,排序取大于该界值的匹配频数的成分峰为共有“印迹模板”数,获得成分簇“印迹模板”总数目。

$$N_{pc} = \bar{N}_p + t_{(\alpha, \nu)} \times SD \quad (1)$$

式中 N_{pc} 为划作“印迹模板”所需最低匹配频数的色谱峰,计算大于等于 N_{pc} 的色谱峰数 N ,即为“印迹模板”数, \bar{N}_p 是匹配频数的平均值, $t_{(\alpha, \nu)}$ 的置信度为 $1-\alpha$,自由度 ν (总匹配峰数目-1)为对应的 t 界值,SD为匹配频数的标准差。

按式(2)计算 N_{pci} 、 $N_{pc(i+1)}$ 两“印迹模板”成分簇划分时的保留时间。

$$t_{Rpci} = \frac{\sum_{j=L_{pci}}^{L_{p(i+1)}} N_{p,j} t_{R,j}}{\sum_{j=L_{pci}}^{L_{p(i+1)}} N_{p,j}} \quad (2)$$

式中 t_{Rpci} 为 N_{pci} 、 $N_{pc(i+1)}$ 两“印迹模板”成分簇划分时的保留时间, t_{pci} 为“印迹模板”所对应匹配色谱峰的保留时间, $t_{pc(i+1)}$ 为 $N_{pc(i+1)}$ “印迹模板”所对应匹配色谱峰的保留时间, N_{pj} 为 $[N_{pci}$ 、 $N_{pc(i+1)}]$ 两“印迹模板”的 j 成分的匹配频率, t_{pj} 为 $[N_{pci}$ 、 $N_{pc(i+1)}]$ 两“印迹模板”的 j 成分的保留时间。

对划好界的“印迹模板”成分簇按保留时间的匹配频数统计均值计算出新的保留时间,而峰面积相加得新的成分簇峰面积,由此构成归肺经成分簇“印迹模板”色谱峰表征体系。

1.2 实验材料

1.2.1 仪器 Acquity UPLC(美国 Waters 公司,型

号:H19CHAO89G);旋转蒸发器(巩义市中天仪器科技有限公司,型号:RE-2000A);循环水式多用真空泵(北京市中兴伟业仪器有限公司,型号:SHB-I-IIA);调温电热套(北京市永光明医疗仪器有限公司,型号:DZTW);多功能粉碎机(永康市玖蓝五金制品有限公司,型号:XY-500A);电子天平(哈尔滨众汇衡器有限公司,型号:JCS-31002C);数显恒温水浴锅(金坛市金城国胜实验仪器厂,型号:HH-4);超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司,型号:SB-5200 DTD);真空干燥箱(上海精宏实验设备有限公司,型号:DZF-6050)。

1.2.2 试药 吐叶醇、亚麻木酚素、款冬酮(上海源叶生物科技有限公司,批号:B30361、B21419、B20690);乙腈、甲醇(美国 TEDIA 公司,批号:20075279、20085005);甲酸(天津市科密欧化学试剂有限公司,批号:20181201);无水乙醇(湖南汇虹试剂有限公司,批号:19065197);自制纯化水。白前、百部、苍耳子、芥子、金荞麦、桔梗、款冬花、马勃、前胡、桑白皮、射干、鱼腥草、紫菀购于湖南长沙高桥中药材市场,均由湖南中医药大学药学院中药鉴定教研室石继连教授按 2020 版《中华人民共和国药典》(一部)有关项下进行鉴别^[19-20],均符合规定,各药材样品均干燥粉碎后过 60 目筛备用。

1.3 供试液的制备与测定

1.3.1 色谱条件及系统性适应 色谱柱为 Ultimate AQ-C₁₈ 柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相为 0.4% 磷酸水溶液(A)-乙腈(B),两相梯度洗脱,洗脱程序:(0~5 min,0%→10%B;5~25 min,10%→15%B;25~45 min,15%→22%B;45~65 min,22%→35%B;65~80 min,35%→40%B;80~90 min,40%→60%B;90~100 min,60%→70%B;100~102 min,70%→90%B;102~105 min,90%→0%B),体积流量为 1.0 mL/min,进样量为 1 μL,检测波长为 320 nm。经计算得出各成分理论塔板数不低于 3000,说明此条件分离度良好。

1.3.2 对照品溶液的制备 分别取吐叶醇、亚麻木酚素、款冬酮对照品适量,精密称定,置棕色量瓶中,加入甲醇定容,分别制成 2.5 mg/mL 的对照品溶液,并超声处理 5 min,过 0.22 μm 有机滤膜进液相色谱仪样品瓶中,待测。

1.3.3 供试品溶液的制备 取 13 味中药白前、百部、苍耳子、芥子、金荞麦、桔梗、款冬花、马勃、前胡、桑白皮、射干、鱼腥草、紫菀,分别取 20 g,磨成细粉,加入 70% 的乙醇回流提取两次,每次 1 h,旋干成浸膏,取一定量浸膏加甲醇定容至 10 mL 容量瓶,用 0.22 μm 过滤器滤过,即得各药品成分提取物,浓度为 0.5 g/mL(生药),取上清液过 0.22 μm 有机滤膜进液相色谱仪样品瓶中,待测。

1.3.4 方法学考察 (1)精密度试验:分别取“1.3.2”项下方法制备的同一供试品溶液,按上述色谱条件进样 1 μL 测定,分别重复进样 6 次,记录指纹图谱,分别测得亚麻木酚素、吐叶醇、款冬酮的相对峰面积 RSD 少于 3%,表明实验仪器精密度良好。

(2)稳定性试验:分别取“1.3.2”项下方法制备的同一供试品溶液在 2、4、6、8、12、24 h 分别进样 1 μL 测定,记录指纹图谱,分别测得亚麻木酚素、吐叶醇、款冬酮的相对峰面积 RSD 少于 3%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

(3)重复性试验:分别取同一批药材,按“1.3.3”项下方法操作,分别平行制备 6 份供试品溶液,分别按上述色谱条件进样 1 μL 测定,记录指纹图谱,分别测得亚麻木酚素、吐叶醇、款冬酮的相对峰面积 RSD 少于 3%,表明该色谱条件下重复性良好。

2 实验结果

2.1 UPLC 指纹图谱的建立

取“1.3.3”项下配制的供试品溶液进样,测得白前、百部、苍耳子、芥子、金荞麦、桔梗、款冬花、马勃、前胡、桑白皮、射干、鱼腥草、紫菀 13 味中药的 U-PLC 指纹图谱叠加图。详见图 1。

2.2 UPLC 指纹图谱的总量统计矩及信息熵分析

按总量统计矩参数公式计算,分别得到白前、百部、苍耳子、芥子、金荞麦、桔梗、款冬花、马勃、前胡、桑白皮、射干、鱼腥草、紫菀 13 味药材的峰数、总量统计矩零阶矩、一阶矩、二阶矩参数值。详见表 1。

2.3 13 味归肺经 UPLC 中药指纹图谱总量统计矩相似度

根据表 1 中总量统计矩一阶矩、二阶矩参数,按总量统计矩相似度公式计算 13 味归肺经中药指纹图谱的相似度、平均值及 RSD。详见表 2。

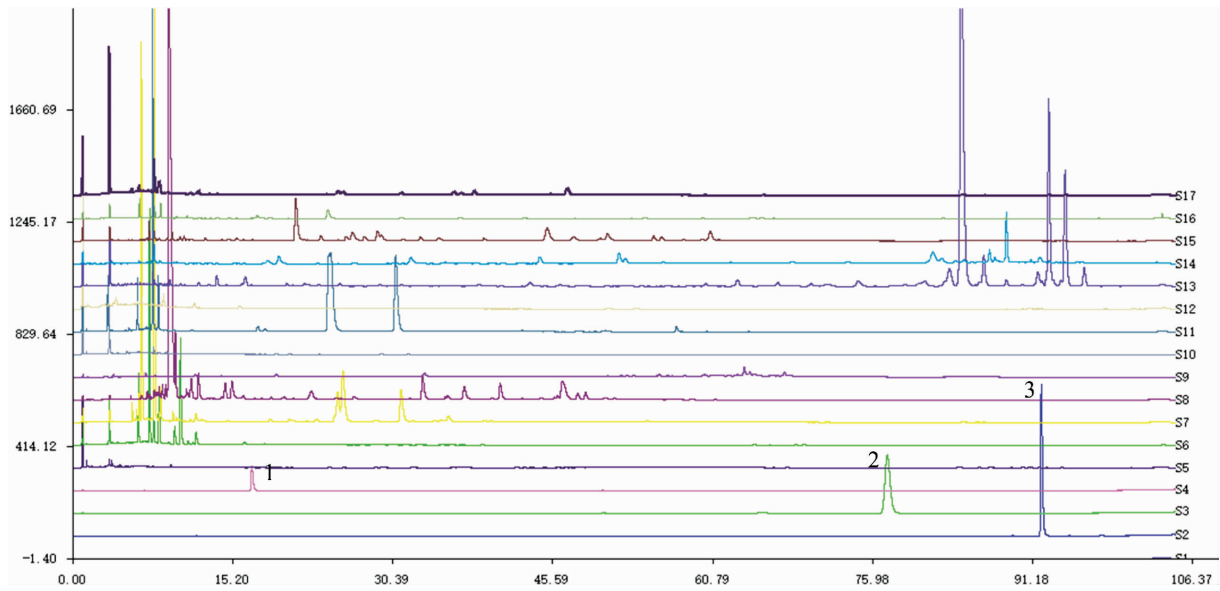


图1 13味归肺经中药的UPLC指纹图谱叠加图

表1 13味归肺经中药UPLC指纹图的总量统计矩计参数及信息熵、信息量

药材	峰数/个	总量零阶矩/ $\mu\text{A}\cdot\text{s}$	总量一阶矩/min	总量二阶矩/ min^2	信息熵/bit	信息量/bit
白前	56	1960	19.45	1073.35	4.791	9389
百部	53	15 231	8.30	33.42	3.629	55 278
苍耳子	88	34 745	14.85	192.10	3.471	120 608
芥子	109	49 425	15.43	184.58	2.994	147 955
金荞麦	112	3768	45.14	548.20	5.633	21 223
桔梗	39	2987	9.20	101.32	3.973	11 868
款冬花	67	30 249	18.30	132.78	3.073	92 948
马勃	53	5812	10.20	435.74	4.859	28 243
前胡	111	65 421	78.44	597.67	3.418	223 601
桑白皮	113	13 296	65.78	886.85	5.239	69 656
射干	92	12 979	28.83	255.56	4.845	62 889
鱼腥草	60	2924	23.33	741.12	4.400	12 867
紫菀	87	11 200	16.45	471.70	5.047	56 522
平均	80	19 230	27.21	435.00	4.260	70 234
RSD/%	33.18	104.10	81.98	74.61	20.66	89.72

2.4 13味归肺经中药UPLC指纹图谱“印迹模板”成分簇的划分

先将13味中药指纹图谱导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统获得不同保留时间的匹配频数,见图2。再按式(1)分别计算出13味归肺经中药成分簇划成“印迹模板”中心成分的最少匹配频数,为7.35个,取大于7的匹配频数色谱峰为“印迹模板”成分簇中心成分,共确定了30个“印迹模板”成分簇;再根据式(2)划分出每个“印迹模板”成分簇间的界线,再根据匹配频数统计法计算出新保

留时间和新峰面积,其划分后生成新的指纹图谱的保留时间和峰面积,详见表3。

3 分析与讨论

3.1 13味归肺经中药UPLC指纹图谱特征分析

由图1、表1-2可知,13味归肺经中药的UPLC指纹图谱的峰数目相差较大,以桔梗最少,为39个,以桑白皮最多,为113个,平均80个,RSD为33.18%,说明各归肺经中药的成分种类变化较大,成分簇种数不同;总量统计矩零阶矩相差更大,以白前最少,

表 2 归肺经 13 味中药 UPLC 指纹图谱的总量统计矩相似度

药材	白前	百部	苍耳子	芥子	金荞麦	桔梗	款冬花	马勃	前胡	桑白皮	射干	鱼腥草	紫菀													
白前	1																									
百部	0.305	3	1																							
苍耳子	0.602	6	0.549	9	1																					
芥子	0.595	8	0.545	5	0.981	4	1																			
金荞麦	0.627	1	0.153	7	0.394	7	0.398	3	1																	
桔梗	0.468	0	0.735	6	0.771	9	0.760	6	0.252	0	1															
款冬花	0.535	2	0.499	3	0.867	2	0.885	4	0.399	8	0.669	5	1													
马勃	0.755	5	0.449	7	0.784	3	0.770	8	0.428	9	0.661	2	0.674	6	1											
前胡	0.297	8	0.016	2	0.092	4	0.092	7	0.486	4	0.040	4	0.087	2	0.131	6	1									
桑白皮	0.457	9	0.074	9	0.221	7	0.222	8	0.685	2	0.132	1	0.217	3	0.266	5	0.800	3	1							
射干	0.644	3	0.286	6	0.635	7	0.645	3	0.649	2	0.431	8	0.678	0	0.601	6	0.213	3	0.389	2	1					
鱼腥草	0.900	0	0.326	8	0.657	4	0.652	9	0.662	0	0.497	9	0.599	3	0.761	5	0.285	6	0.455	6	0.734	4	1			
紫菀	0.800	3	0.414	3	0.784	1	0.776	2	0.524	3	0.616	1	0.700	9	0.882	3	0.178	9	0.331	8	0.717	5	0.852	0	1	
平均值	0.614	6	0.412	1	0.641	8	0.640	6	0.512	4	0.541	3	0.601	1	0.628	3	0.286	4	0.404	3	0.586	7	0.645	0	0.659	9
RSD/%	34.33	65.25	42.71	42.74	42.37	50.79	43.05	39.37	105.85	67.91	35.61	33.07	35.95													
总体平均值							0.5517																			
RSD 的 RSD/%							41.22																			

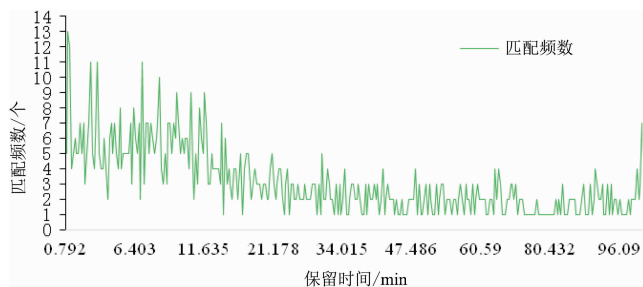


图 2 13 味归肺经中药不同保留时间的匹配频数图

为 $1960 \mu\text{A}\cdot\text{s}$; 以前胡最大, 为 $65421 \mu\text{A}\cdot\text{s}$, 两者相差近 30 倍, 平均为 $1923045 \mu\text{A}\cdot\text{s}$, RSD 为 104.10%; 一阶矩相差也大, 以百部最少, 为 8.3 min, 以前胡最大, 为 78.44 min, 平均为 27.21 min, RSD 为 81.98%, 说明各成分簇种类相差较大; 二阶矩以百部最少, 为 33.42 min^2 , 以白前最大, 为 1073.35 min^2 , 平均为 435.0 min^2 , RSD 为 74.61%, 说明各成分簇“印迹模板”类型分散。表 2 的总量统计矩的相似度也佐证了 13 味归肺经中药的成分簇变化较大, 其整体相似度以前胡最小, 为 0.286 4, 以紫菀最大, 为 0.659 9, 平均为 0.546 7, RSD 为 49.07%。上述的 UPLC 指纹图谱成分簇总量统计矩参数表明归肺经中药成分簇种类较多, 成分簇印迹性各异, 各中药归肺经的成分簇类型不尽相同。

同时对 13 味归肺经中药的信息熵进行分析, 其中以芥子最小, 为 2.994, 以金荞麦最大, 为 5.633, 13

味归肺经中药平均信息熵为 4.259, RSD 为 20.66%, 说明各中药成分簇构成比相差大小不同。构成比相差越大, 信息熵越小, 相差越小, 信息熵越大。同时还与峰的数目有关, 峰数越少, 信息熵越小, 峰数越多, 信息熵越大。因此归肺经中药成分的构成比相差也大不相同, 信息量结果与零阶矩相似。

因此, 通过对 13 味归肺经中药指纹图谱特征及信息熵、信息量的分析, 发现归肺经成分簇种类较多且分散, 各中药不尽相同, 其中以前胡相差最大, 以上结果体现了归肺经中药成分簇的多样性。说明归肺经中药可从细胞、组织、器官等不同层次进行进行多环节代谢, 发挥肺经的“印迹模板”“气析”作用, 可构成肺经作用成分簇家族系统^[5]。

3.2 13 味归肺经中药成分簇“印迹模板”的划分

尽管归肺经中药成分簇多样, 但可以通过指纹图谱的印迹性进行成分簇“印迹模板”划分。根据“印迹模板”特征与色谱印迹性相一致原则, 对中药指纹图谱相似度分析系统中的成分簇匹配频数进行划分, 如图 2。由图可知 13 味中药匹配频数较高者均集中在色谱峰的前端 12 min 以内, 而后面的匹配频数偏低, 取置信系数为 0.05, 求算概率大于 95% 的匹配频数最低值为 7.35, 取匹配数为 7 以上成分簇作为“印迹模板”中心成分来划分成分簇, 共得到 30

表3 13味归肺经中药成分“印迹模板”划分后新UPLC指纹图谱的保留时间和峰面积

编号	保留时间/min	峰面积/ $\mu\text{A}\cdot\text{s}$													RSD/ %	平均 RSD/%	RSD/ %	
		白前	百部	苍耳子	芥子	金荞麦	桔梗	款冬花	马勃	前胡	桑白皮	射干	鱼腥草	紫菀				
1	0.887	404.6	314.6	78.7	28.5	25.8	227.6	279.6	989.8	231.6	75.2	166.7	40.6	432.1	253.5	103.1		
2	1.473	101.0	20.8	11.2	18.0	2.1	16.7	42.0	169.4	73.9	10.1	13.7	9.1	30.1	39.9	121.0		
3	2.522	44.7	47.7	4.9	5.0	0.0	28.7	31.7	154.0	106.7	6.6	24.0	5.8	84.8	41.9	111.7		
4	3.097	30.5	51.5	10.5	12.8	36.2	0.0	1040.0	123.1	0.0	0.0	12.8	0.0	94.2	108.6	260.2		
5	3.464	186.4	862.4	214.2	67.4	0.0	919.9	0.0	143.3	1061.0	38.2	243.9	243.8	611.0	507.0	144.2		
6	3.801	177.3	121.7	59.2	7.6	65.2	84.5	49.4	234.3	129.0	45.9	29.1	10.1	70.0	83.3	79.7		
7	4.343	98.4	125.3	45.0	10.5	21.7	78.6	79.6	526.9	140.7	2.9	22.6	10.4	312.8	113.5	131.9		
8	4.917	25.3	145.2	42.2	6.7	21.2	163.0	85.3	264.1	149.6	18.9	2.9	5.1	135.0	81.9	100.6		
9	5.265	44.6	100.3	37.8	8.8	18.8	0.0	92.2	158.4	145.9	10.6	20.2	7.9	205.1	65.4	104.2		
10	5.649	64.7	197.7	363.8	86.5	19.9	57.7	102.0	198.7	124.1	41.4	23.5	23.2	264.6	120.6	88.20		
11	6.026	35.6	1275.0	300.0	50.3	19.9	182.4	847.8	331.2	230.0	16.5	36.0	18.6	370.2	285.7	132.2		
12	6.349	34.9	0.0	463.6	21.0	24.1	45.1	94.4	237.8	139.9	79.2	38.5	289.2	282.7	134.5	105.0		
13	6.550	40.5	101.4	8666.0	123.3	18.9	73.4	53.9	174.6	64.3	0.0	23.9	30.4	212.3	737.2	323.3		
14	6.763	0.0	145.7	0.0	10.9	16.9	38.6	47.9	165.1	95.6	34.3	27.6	13.0	103.1	53.7	103.3		
15	6.913	29.2	163.6	0.0	25.5	88.1	76.7	80.9	0.0	11.2	0.0	21.5	16.5	65.6	44.5	108.2		
16	6.997	0.0	0.0	95.4	0.0	0.0	0.0	135.3	207.7	86.6	64.4	44.0	0.0	138.0	59.3	116.6	164.70	46.05
17	7.235	28.7	848.0	191.7	250.5	36.8	116.1	139.4	115.6	163.1	52.1	380.1	48.5	360.9	440.9	233.7		
18	7.575	23.6	1385.0	178.5	205.1	13.8	141.7	858.0	124.7	240.5	60.8	5.8	10.2	0.0	865.2	280.8		
19	7.808	5.7	0.0	10298.0	350.2	26.4	25.5	0.0	121.7	192.1	362.5	185.7	219.2	795.6	967.9	290.5		
20	8.132	0.0	1503.0	17.7	482.4	37.2	53.7	139.0	52.27	59.6	50.1	60.6	0.0	622.7	313.7	157.1		
21	8.387	1.4	36.0	981.7	387.4	3.4	0.0	34.6	130.4	107.8	97.4	15.4	310.1	92.9	169.1	160.8		
22	8.717	14.2	40.4	71.5	307.1	27.7	42.8	69.6	370.1	67.05	0.0	0.0	5.5	95.6	85.5	136.9		
23	8.929	11.1	30.2	0.0	0.0	18.1	49.9	0.0	0.0	83.6	9.5	49.4	15.0	56.3	24.8	108.6		
24	9.279	58.6	40.1	398.4	30027.0	17.1	2.2	41.5	18.5	195.3	57.5	286.8	16.1	128.2	407.0	344.9		
25	10.027	22.3	3640.0	296.9	2109.0	20.5	25.4	12.2	59.7	177.7	90.4	329.4	76.0	206.5	543.5	199.8		
26	10.893	12.3	126.1	185.6	521.8	22.7	6.9	14.4	0.0	137.6	46.9	90.5	103.5	80.0	103.7	133.5		
27	11.512	12.0	518.1	355.7	1004.0	78.7	0.0	39.6	199.8	17.1	7.3	56.8	1.4	30.7	178.6	165.0		
28	12.239	8.1	16.3	221.6	1164.0	5.5	0.0	42.2	13.5	197.0	43.6	117.7	8.3	171.1	154.6	202.9		
29	26.839	115.2	262.9	10436.0	11049.0	909.7	530.3	16410.0	242.8	3260.6	2205.0	8741.0	969.4	2663.0	4446.0	120.5		
30	74.655	329.0	112.7	719.2	1083.0	2171.3	0.0	386.3	284.7	57731.0	9768.0	1909.0	417.6	485.2	5800.0	272.7		

个归肺经“印迹模板”成分簇,由表3可知,各“印迹模板”成分簇的RSD都非常大,以6号峰最少,为79.70%,以24号峰最大,为344.9%,大小相差悬殊。总量统计矩法是运用数学统计思维从整体方面计算,不采用传统的化学分析模式,即单个特征峰——对比,只考虑中药材化学成分簇“印迹模板”差异,根据相同(似)的“印迹模板”,具有相同(似)的相色谱印迹行为,具有相同(似)的保留时间,具有相同(似)的药效属性,具有相同(似)的中药归经属性的原则进行分析,因此总量统计矩是较宜用来研究中药成分簇归经属性的方法,再结合信息熵的越小成分簇就越集中的原则,选择总量统计矩相似度高、中、小而信息熵小,匹配频数高的归肺经中药进行“印迹模

板”特征研究可获得归肺经中药的突破。因此,13味中药中以前胡的相似度最低,信息熵也较低;桔梗的成分数目少,信息熵也较低,同时相似度又接近平均相似度;百部的成分数目较少,信息熵也较低,总量一阶矩最少,可作为研究归肺经物质基础良好的模型中药。同时,金荞麦、桑白皮、射干、鱼腥草都含有黄酮成分,色谱峰较多,相似度也与平均值接近,因此可作为归肺经中药成分组模型进行研究。从新的“印迹模板”色谱峰来看,可初步推断归肺经中药的超分子“印迹模板”主要在色谱峰的前端12 min以前,以极性和中性物质为主,而12 min以后为各归肺经中药特有的“印迹模板”,已将其合并为29、30两个“印迹模板”成分簇。

本文是基于中医药超分子“印迹模板”的“气析”理论,运用总量统计矩分析法、信息熵理论对 13 味归肺经中药指纹图谱进行解析,对整个指纹图谱成分簇种类、含量及构成比进行比较,初步分析了归肺经中药的“印迹模板”成分簇特征,为后续的 HPLC/MS 分析和经络实体荧光成像研究奠定了基础,也为中药归经和经络物质基础研究提供一种基础研究方法。

参考文献

- [1] 张华敏,杨 健,刘思鸿,等.中药归经理论的研究方法及分子描述在中药归经中的研究探讨[J].中国医院用药评价与分析,2019,19(12):1518-1520,1524.
- [2] 王 彤,管竞环.中药归经与疾病归经相关探讨[J].中医杂志,2012,53(4):356-357.
- [3] 贺福元,邓凯文,杨岩涛,等.基于超分子化学的中药药性理论研究方法探讨(1):中药归经[J].中国中药杂志,2015,40(8):1624-1629.
- [4] 邓凯文,贺琪珺,李海英,等.回眸中医药超分子化学研究十载,构筑中医药超分子“气析”理论[J].湖南中医药大学学报,2022,42(3):477-485.
- [5] 周燕子,王敏存,贺玉婷,等.鱼腥草挥发油体外代谢通用客体“印迹模板”研究[J].中草药,2021,52(1):75-81.
- [6] 贺玉婷,樊启猛,周逸群,等.中药毒性的研究现状及其超分子“印迹模板”调控机制的探讨[J].中草药,2020,51(21):5638-5644.
- [7] 贺福元,邓凯文,樊启猛,等.基于中医药超分子“气析”理论破解中医药重大科学问题和工程技术难题[J].中草药,2020,51(20):5381-5388.
- [8] 钟赣生.中药学[M].4 版.北京:中国中医药出版社,2016.
- [9] 李海英,贺琪珺,邓凯文,等.基于超分子“气析”理论构建中药质量标志物的印迹性新评价体系[J].中草药,2021,52(16):4771-4778.
- [10] 曾令军,林兵,宋洪涛.中药谱效关系研究进展及关键问题探讨[J].中国中药杂志,2015,40(8):1425-1432.
- [11] 张小艺,刘久石,高石曼,等.中药谱效关系的研究方法及应用进展[J].中国中药杂志,2019,44(20):4405-4411.
- [12] 王喜军.中药药效物质基础研究的系统方法学——中医方证代谢组学[J].中国中药杂志,2015,40(1):13-17.
- [13] 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].药学报,2008(2):195-201.
- [14] 迟显苏,赵海军,王 媛,等.基于文献考证及物质基准评价探讨中医经典名方现代化开发[J].中华中医药杂志,2021,36(2):643-647.
- [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] 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.
- [17] 李原华,朱俊平,赵 靖,等.基于总量统计矩与信息熵的养精神玉汤质量传递与稳定性研究[J].中国中医药信息杂志,2022,29(6):92-96.
- [18] 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.
- [19] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:2020 年版一部[M].北京:中国医药科技出版社,2020.
- [20] 辛小红,范雪梅,张 凯.张仲景肺系疾病用药规律研究[J].中国中医急症,2014,23(1):45-47.

(本文编辑 周 旦)