

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

朱志飞, 樊启猛, 刘有志, 孟 蕾, 肖美凤, 周逸群, 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, 湖南 长沙 410208

摘要: **目的** 利用信息熵最大化原则优化经典名方身痛逐瘀汤 (Shentong Zhuyu Decoction, SZD) 的 UPLC 指纹图谱条件。**方法** 采用 Waters Acquity UPLC HSS T3 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm); 以乙腈-0.4%磷酸水溶液为流动相, 梯度洗脱; 体积流量 0.6 mL/min, 柱温 40 ℃; 190~400 nm 全波长扫描, 进样量 1 μL, 计算信息熵, 优选 SZD 指纹图谱信息熵最大化的波长, 在最优波长下考察流动相、柱温、体积流量、进样量, 以信息熵最大化原则选择最佳条件, 并以最优条件进行 15 批次 SZD 的 UPLC 指纹图谱研究。**结果** 信息熵最大化原则下的 SZD UPLC 指纹图谱最优条件为检测波长 235 nm, 乙腈-0.4%磷酸水溶液作为流动相; 体积流量 0.4 mL/min, 柱温 40 ℃, 进样量 3 μL; 绝对和相对信息熵最大。15 批 SZD UPLC 指纹图谱总量统计矩相似度 0.882 8~0.995 3, 总量一阶矩、信息熵的 RSD 值分别为 5.40%、2.25%, 均小于 10%, 说明中药多成分体系总体化学结构的印迹作用趋势稳定。**结论** 当色谱峰的峰数与峰面积达到最好表征时, 其信息熵最大, 此时峰数较多, 峰形较优, 分离度较好, 理论塔板数较高, 可确定最佳指纹图谱条件。信息熵最大化原则可为中药及其复方指纹图谱优化提供科学依据, 为经典名方的质量控制奠定基础。

关键词: 身痛逐瘀汤; 经典名方; 信息熵最大化原则; UPLC; 指纹图谱; 总量统计矩; 总量一阶矩; 印迹作用; 质量控制
中图分类号: R286.02 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2020)12-3173-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.12.008

Study on optimization of UPLC fingerprint of classic prescription of Shentong Zhuyu Decoction based on principle of information entropy maximization

ZHU Zhi-fei, FAN Qi-meng, LIU You-zhi, MENG Lei, XIAO Mei-feng, ZHOU Yi-qun, ZHOU Jin, HE Fu-yuan
College of Pharmacy, Hunan Provincial Key Laboratory of Druggability and Preparation Modification for Traditional Chinese Medicine, Laboratory of Supramolecular Mechanism and Mathematical Characterization of Traditional Chinese Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

Abstract: **Objective** To optimize the condition of the fingerprint of the classic prescription Shentong Zhuyu Decoction (SZD) by the principle of information entropy maximization. **Methods** The chromatographic fingerprint was obtained with Acquity UPLC HSS T3 column (100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm) and gradient eluted with acetonitrile and 0.4% phosphoric acid aqueous solution; The flow rate was 0.6 mL/min, and the column temperature was maintained at 40 ℃; The detection wavelengths were set at 190—400 nm, and the injection volume was 1 μL, and calculate the information entropy to optimize the wavelength of maximizing the information entropy of the fingerprint of SZD, under the optimal wavelength, investigate the mobile phase, column temperature, flow rate, sample volume, select the optimal conditions based on the principle of maximizing the information entropy, and carry out the fingerprint study of 15 batches of SZD under the optimal conditions. **Results** Under the principle of information entropy maximization, the optimal conditions of the fingerprint of SZD were as follows: the detection wavelength was 235 nm, and gradient eluted with acetonitrile and 0.4% phosphoric acid aqueous solution; The flow rate was 0.4 mL/min, and the column temperature was maintained at 40 ℃, the

收稿日期: 2020-01-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81903759); 国家自然科学基金资助项目 (81874507); 国家自然科学基金资助项目 (81703824); 国家自然科学基金资助项目 (81803729); 湖南省教育厅项目 (18K071); 湖南省“国内一流培育学科”药学开放基金资助项目 (2018XY09); 中药成药性与制剂制备湖南省重点实验室开放基金资助项目 (2017); 国家留学基金资助 (201708430243); 研究生创新课题 (2018CX56)

作者简介: 朱志飞 (1997—), 女, 在读硕士。E-mail: 1519153144@qq.com

***通信作者** 周 晋, 硕士生导师, 副教授。E-mail: hnzhoujin@sina.com

贺福元, 博士生导师, 教授。E-mail: pharmsarking@tom.com

injection volume was 3 μL ; The absolute and relative entropy was the largest. The total statistical moment similarity of 15 batches of SZD fingerprints ranged from 0.882 8 to 0.995 3. The RSD values of the total first-order moment and information entropy of the total amount were 5.40% and 2.25% respectively, all of which were less than 10%, indicating that the imprinting effect of the overall chemical structure of the multi-component system of traditional Chinese medicine was stable. **Conclusion** When the number and area of chromatographic peaks reach the best characterization, the information entropy is the largest. At this time, the number of peaks is high, the shape of peaks is better, the resolution is good, the number of theoretical plates is higher, and the best condition of fingerprint can be determined. The principle of information entropy maximization can provide scientific basis for fingerprint optimization of traditional Chinese medicine and its compound prescription, and lay a foundation for quality control of classical formulas.

Key words: Shentong Zhuyu Decoction; classic prescription; information entropy maximization; UPLC; fingerprint; total statistical moment; total first-order moment; imprinting effect; quality control

经典名方作为中华民族宝贵财富，中医药的瑰宝，随着第1批100首古代经典名方目录和《古代经典名方中药复方制剂简化注册审批管理规定》发布，促进中药经典名方研发热潮，然而研究成功的关键在于能否研制出符合质量要求的古代经典名方“物质基准”，以确保复方制剂的安全、均一、有效性^[1-6]。身痛逐瘀汤（Shentong Zhuyu Decoction, SZD）源自清代王清任的《医林改错》，由秦艽、川芎、桃仁、红花、甘草、羌活、没药、当归、五灵脂（炒）、香附、牛膝、地龙（去土）12味药组成，主治气血闭阻经络所致的肩痛、臂痛、腰痛、腿痛或周身疼痛、经久不愈证候，对关节炎、腰椎管狭窄、腰肌劳损、神经根型颈椎病、疼痛、腰椎间盘突出症均有很好的作用，在临床上广泛应用^[7-8]。经典名方是一个复杂的多成分体系，一般采用指纹图谱进行质量控制，其中常将指纹图谱特征峰分割成信息源按多维向量的分析方法分析^[9-11]。本实验基于信息熵原理^[12]，将中药指纹图谱中的色谱峰看成在一定系统适宜性条件下时间序列信息，各色谱峰的归一化值为其出现的概率，一张指纹图谱为若干个色谱峰事件共同出现的信息概率，可以用信息熵来进行定量表征，通过中药指纹图谱测定的系统适宜性调节，包括流动相、柱温、体积流量、进样量等改变，可获得变化的色谱图，其中有信息熵与之对应，当色谱峰的峰数与峰面积达到最好表征时，其信息熵最大，此时指纹图谱可综合全面反映中药提取液中若干成分的整体印迹行为，由此建立的指纹图谱最大限度地表征了色谱峰的信息，反映了与之对应中药成分的物质属性。所以，本实验以信息熵最大化原则运用超高效液相（UPLC）优化经典名方SZD最佳条件，为指纹图谱有效优化提供科学依据，旨在为包括经典名方在内的中药及其复方制剂的质量控制奠定基础。

1 基本原理^[13-14]

申农信息论指出，假设1个事件（例如收到1个信号）有 n 个等可能性的结局，那么结局未出现前的不确定程度——信息熵（ H ）与 n 的自然对数成正比，即有式（1），信息熵即申农熵。

$$H = C \ln n, C \text{ 为常数} \quad (1)$$

中药及其复方指纹图谱上有若干个峰，每1个峰就与相应成分对应，其峰的强度由这个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），还与色谱柱的分离度相关，因此1个成分峰的出现与否的自由权是在这一色谱条件的综合反映，因此将每1成分看成1个信息，则可用 H 即申农熵来确定其自由权。从统计意义上讲，熵反映SZD成分在色谱图中的表达状态数的多少。因此， H 能够反映指纹图谱所携带的信息总量。当色谱条件、药材构成比及响应因子一定时，色谱图所带信息由其已分离色谱峰的回应值百分率决定，为式（2），式中 p_i 表示每个峰所占总峰的构成比，也就是各峰的吸收度百分比， p_i 越大，表示这个峰就越特征，其所占的比率越大。

$$H = - \sum_{i=1}^n C p_i \ln p_i \quad (2)$$

假定1个信息量是 n 个相互独立的选择结果，其中每个选择都是在“0”或“1”中作出，则这个信息量的可能的选择数（ Ω ）值为式（3）。

$$\Omega = 2^n \quad (3)$$

于是 $H = C \ln \Omega = n C \ln 2$ ，令 $H = n$ ，则可得到常数式（4）。

$$C = 1/\ln 2 = \log_2 e \quad (4)$$

所以， H 表达式为

$$H = - \frac{1}{\ln 2} \sum_{i=1}^n p_i \ln p_i \quad (5)$$

此外中药指纹图谱除了表征特征峰的信息外，

还表现各色谱峰面积 (W_1 、 W_2 、 $\cdots$ 、 W_i) 出现与否的概率, 最后得到信息熵表达公式为

$$H = -\frac{1}{\ln 2} \sum_{i=1}^n W_i \ln W_i \quad (6)$$

2 材料

Acquity UPLC H-Class 系统, 四元溶剂泵、自动进样装置、在线真空脱气装置、PDA 检测器、Empower3 色谱工作站、柱温箱, 美国沃特世公司; RE-52AA 旋转蒸发器, 上海雅荣生化仪器设备有限公司; MA110 电子天平, 上海良平仪器仪表有限公司; SHZ-D (III) 循环水式真空泵, 巩义市予华仪器有限责任公司; DZF-6050 真空干燥箱, 上海精宏实验设备有限公司; SK3300H 超声波清洗器, 上海科寻超声仪器有限公司。

秦艽为龙胆科植物秦艽 *Gentiana macrophylla* Pall. 的干燥根; 川芎为伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎; 桃仁为蔷薇科植物桃 *Prunus persica* (L.) Batsch 的干燥成熟种子; 红花为菊科植物红花 *Carthamus tinctorius* L. 的干燥花; 甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根及根茎; 羌活为伞形科植物羌活 *Notopterygium incisum* Ting ex H. T. Chang 的干燥根茎; 没药为橄榄科植物地丁树 *Commiphora myrrha* Engl. 的干燥树脂; 当归为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的根; 五灵脂为鼯鼠科动物橙足鼯鼠 *Trogopterus xanthipes* Milne-Edwards 的干燥粪便; 香附为莎草科植物莎草 *Cyperus rotundus* L. 的干燥根茎; 牛膝为苋科植物牛膝 *Achyranthes bidentata* Bl. 的干燥根; 地龙为钜蚓科动物参环毛蚓 *Pheretima aspergillum* (E. Perrier) 的干燥体; 上述药材每产地各 5 批, 均由本课题组成员于原产地购买, 经湖南中医药大学药学院中药鉴定教研室石继连副教授按《中国药典》2015 年版一部有关项下进行鉴定, 具体信息见表 1。

对照品均购自上海源叶生物科技有限公司, 包括龙胆苦苷 (批号 Y30J9Q66926)、阿魏酸 (批号 H27J7L16718)、苦杏仁苷 (批号 Z28A6L2815)、羟基红花黄色素 A (批号 R31A9F69105)、甘草酸 (批号 P31J9F66966)、阿魏酸苯乙醇酯 (批号 Y20M10H88860)、异欧前胡素 (批号 P13S9F70271)、 β -蜕皮甾酮 (批号 T02A9F57640), 质量分数均 $\geq 98\%$ 。

乙腈、甲醇为色谱纯, 德国默克公司; 磷酸,

表 1 SZD 中各药材的产地信息

Table 1 Origin information of 15 batches of herbs in SZD

药材	产地		
	1~5 批	6~10 批	11~15 批
秦艽	河北围场	辽宁凌源	内蒙古大庙
川芎	四川彭州	四川德州	四川都江堰
桃仁	河北保定	河北丰宁	山东费县
红花	河南辉县	四川西昌	新疆裕民
甘草	河北围场	辽宁凌源	内蒙古大庙
牛膝	河北围场	辽宁凌源	河南武陟
羌活	甘肃岷县	甘肃渭源	甘肃宕昌
当归	甘肃岷县	甘肃渭源	甘肃宕昌
五灵脂	陕西丹凤	新疆裕民	青海西宁
香附	湛江遂溪	湛江雷州	北海合浦
地龙	玉林陆川	海南琼海	广东阳江
没药	非洲肯尼亚	非洲肯尼亚	非洲肯尼亚

分析纯, 重庆川东化工有限公司; 甲酸、乙酸, 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司; 水为怡宝纯净水; 0.22 μm 微孔滤膜。

3 方法与结果

3.1 溶液的制备

3.1.1 SZD 全方供试品溶液 精密称定 SZD 全方秦艽 3 g, 川芎 6 g, 桃仁 9 g, 红花 9 g, 甘草 6 g, 羌活 3 g, 没药 6 g, 当归 9 g, 五灵脂 (炒) 6 g, 香附 3 g, 牛膝 9 g, 地龙 (去土) 6 g 共 75 g; 加入 10 倍量水, 浸泡 30 min, 武火煮沸后加热回流提取 1 h, 趁热用纱布滤过, 滤渣再加入 10 倍量水, 第 2 次提取 1 h; 趁热用纱布滤过, 合并 2 次滤液, 并浓缩至 75 mL, 加入一定体积 95%乙醇至含醇量为 80%, 放置 24 h 以上, 抽滤, 上清液回收乙醇浓缩至 75 mL, 得生药质量浓度为 1 g/mL 的全方样品溶液; 取 1 mL 样品溶液, 挥干, 加入甲醇复溶, 定容至 5 mL, 超声 5 min, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 即得 SZD 全方供试品溶液。

3.1.2 对照品溶液的制备

(1) 单成分对照品溶液: 分别精密称取龙胆苦苷、羟基红花黄色素 A、阿魏酸、 β -蜕皮甾酮、甘草酸、苦杏仁苷、阿魏酸苯乙醇酯、异欧前胡素 1.0、1.1、1.3、1.1、1.0、1.4、1.3、1.5 mg, 按照《中国药典》2015 年版各药材的对照品制备项下方法, 依次加入甲醇、25%甲醇、70%甲醇、甲醇、70%乙醇、70%甲醇、70%甲醇、甲醇定容至 5 mL, 分别制成质量浓度约为 0.2 g/L 的对照品溶液, 超声 5 min,

过 0.22 μm 微孔滤膜, 即得单成分对照品溶液。

(2) 混合对照品溶液: 分别精密吸取“3.1.2(1)”项下龙胆苦苷、羟基红花黄色素 A、阿魏酸、 β -蜕皮甾酮、甘草酸、苦杏仁苷、阿魏酸苯乙醇酯、异欧前胡素单成分对照品溶液 1 μL , 充分混合后加甲醇定容, 得混合对照品溶液, 各成分质量浓度依次为 0.02、0.02、0.03、0.02、0.02、0.03、0.03、0.03 g/L, 超声 5 min, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 即得混合对照品溶液。

3.2 信息熵最大化指纹图谱的建立

3.2.1 指纹图谱方法 测定条件: Waters Acquity UPLC HSS T3 色谱柱 (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8 μm), 以 0.4% 磷酸水溶液-乙腈为流动相, 进行梯度洗脱: 0~2.5 min, 0.4% 磷酸水溶液; 2.5~6 min, 0~4% 乙腈; 6~15 min, 4%~8% 乙腈; 15~25 min, 8%~12% 乙腈; 25~35 min, 12%~25% 乙腈; 35~50 min, 25%~35% 乙腈; 50~60 min, 35%~50% 乙腈; 60~65 min, 50%~70% 乙腈; 65~70 min, 0.4% 磷酸水溶液; 体积流量为 0.6 mL/min; 柱温 40 $^{\circ}\text{C}$; 进样量 1 μL , 全波长扫描 190~400 nm。

3.2.2 最大吸收波长的优选 吸取 1 μL 全方供试品溶液, 按“3.2.1”项下的指纹图谱测定条件进样分析, 190~400 nm 全波长扫描, 提取图谱数据按公式 (6) 计算 H , 具体结果见图 1。

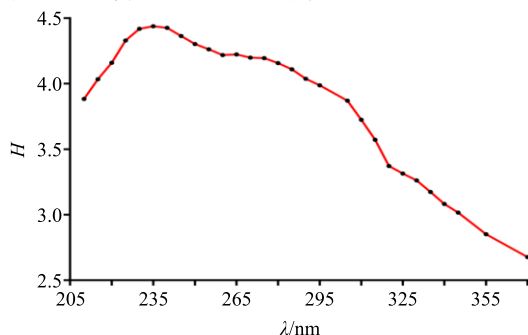


图 1 不同波长的信息熵

Fig. 1 Information entropy at different wavelengths

3.2.3 进样量考察 分别吸取全方供试品溶液 1、2、3、4、5 μL , 按“3.2.1”项下的指纹图谱测定条件进样分析, 提取 235 nm 下指纹图谱并计算 H , 分别为 4.44、4.42、4.53、4.34、4.48, 得 3 μL 进样量的信息熵最大。

3.2.4 流动相考察 吸取 1 μL 全方供试品溶液, 流动相分别为 0.4% 磷酸水溶液-乙腈、0.05% 乙酸水溶液-乙腈、0.1% 甲酸水溶液-乙腈、纯水-乙腈、0.05% 磷酸水溶液-乙腈, 按“3.2.1”项下指纹图谱测定条

件进样分析, 提取 235 nm 下指纹图谱并计算 H , 分别为 4.44、4.22、3.15、4.11、4.15, 得 0.4% 磷酸水溶液-乙腈下 H 最大。

3.2.5 体积流量考察 吸取 1 μL 全方供试品溶液, 体积流量分别为 0.2、0.3、0.4、0.5、0.6 mL/min, 按“3.2.1”项下指纹图谱测定条件进样分析, 提取 235 nm 下指纹图谱并计算 H , 分别为 4.50、4.56、4.57、4.48、4.44, 得 0.4 mL/min 下 H 最大。

3.2.6 柱温考察 吸取 1 μL 全方供试品溶液, 柱温分别为 30、35、40、45、50 $^{\circ}\text{C}$, 按“3.2.1”项下指纹图谱测定条件进样分析, 提取 235 nm 下指纹图谱并计算 H , 分别为 4.28、4.30、4.44、4.32、4.39, 得 40 $^{\circ}\text{C}$ 下 H 最大。

3.2.7 最佳色谱条件确定 综合以上考察结果最终确定以乙腈-0.4% 磷酸水溶液作为流动相进行梯度洗脱, 体积流量为 0.4 mL/min, 检测波长为 235 nm, 进样量 3 μL , 样品质量浓度 0.2 g/mL, 柱温 40 $^{\circ}\text{C}$ 。

3.2.8 UPLC 指纹图谱建立 取 15 批 SZD 样品, 按“3.1.1”项下方法制备 SZD 全方供试品溶液, 分别标注为 S1~S15, 在“3.2.7”项下色谱条件测定最优色谱条件下 UPLC 图谱, 并采用国家药典委员会《中药指纹图谱相似度评价系统 2012.130723 版本》软件进行图谱处理, 结果见图 2。其中按照《中国药典》2015 年版以及查阅相关文献确定 SZD 12 味药材含量测定的指标成分, 并在“3.2.7”项下进行测定^[15-22]。前期预试验测定了秦艽 (龙胆苦苷、马钱苷酸)、川芎 (阿魏酸、绿原酸)、桃仁 (苦杏仁苷)、红花 (羟基红花黄色素 A、山柰素)、甘草 (甘草酸、甘草苷)、羌活 (羌活醇、异欧前胡素)、当归 (阿魏酸、阿魏酸苯乙醇酯)、牛膝 (β -蜕皮甾酮)、香附 (α -香附酮) UPLC 图谱, 因其他成分在指纹图谱中响应低且分离度不佳, 所以指认出龙胆苦苷 (秦艽)、阿魏酸 (川芎和当归)、苦杏仁苷 (桃仁)、羟基红花黄色素 A (红花)、甘草酸 (甘草)、异欧前胡素 (羌活)、阿魏酸苯乙醇酯 (当归)、 β -蜕皮甾酮 (牛膝) 8 种成分, 作为对照品, 并对不同波长下的样品图谱进行比较分析, 结果见图 3、4。

以 220、235、280、325 nm 为例, 在最优色谱条件下的指纹图谱 H 分别为 4.15、4.43、4.16、3.31; 分离度平均值分别为 1.72、1.93、1.65、2.40; 理论塔板数平均值分别为 394 552、409 308、390 173、293 898; 说明 235 nm 条件下, H 最大, 分离度、理论塔板数较好。

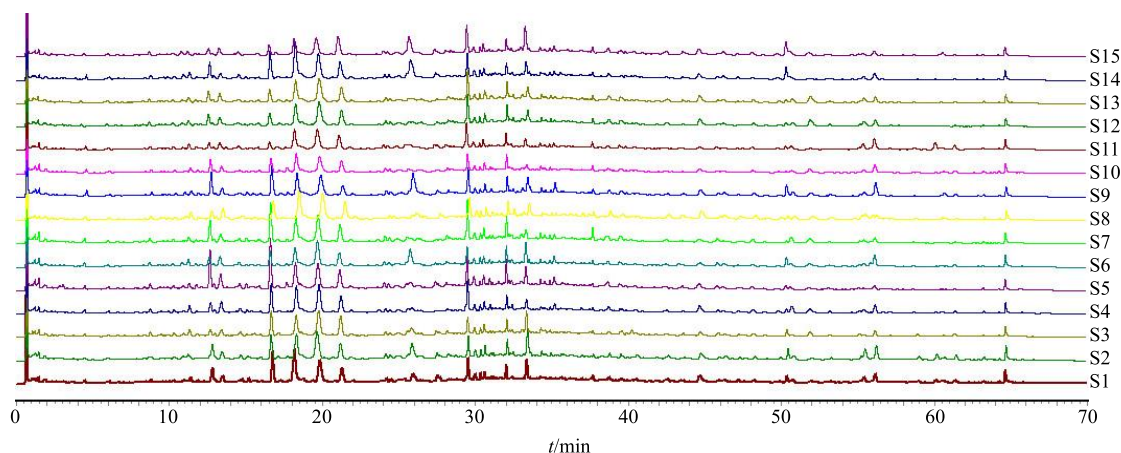
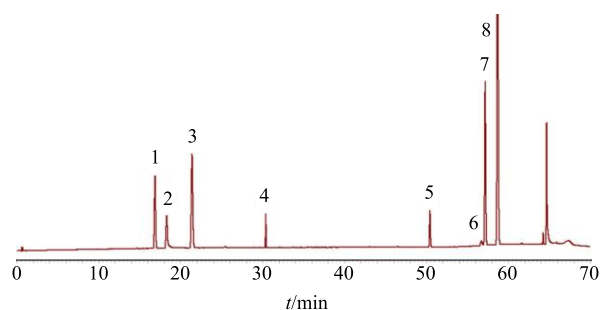


图 2 15 批次 SZD UPLC 指纹图谱

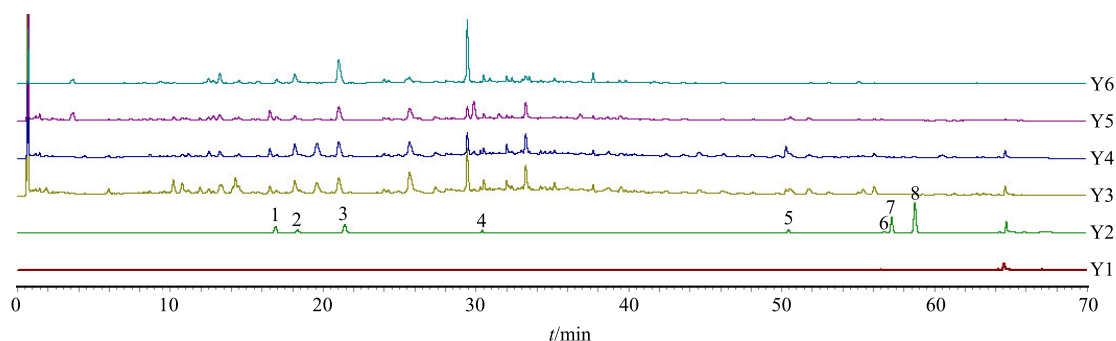
Fig. 2 UPLC fingerprint of 15 batches of SZD



1-龙胆苦苷 2-羟基红花黄色素 A 3-阿魏酸 4-β-蜕皮甾酮
5-甘草酸 6-苦杏仁苷 7-阿魏酸苯乙醇酯 8-异欧前胡素
1-gentiopicroside 2-hydroxysafflor yellow A 3-ferulic acid
4-β-ecdysterone 5-glycyrrhizic acid 6-amygdaalin 7-phenyl
ferulate 8-isoimperatorin

图 3 混合对照品溶液的 UPLC 图谱

Fig. 3 UPLC fingerprint of mixed control solution



Y1-甲醇 Y2-235 nm 下混合对照品溶液 Y3-220 nm 下供试品溶液 Y4-235 nm 下供试品溶液 Y5-280 nm 下供试品溶液 Y6-325 nm
下供试品溶液
Y1-methanol Y2-235 nm mixed control solution Y3-220 nm test solution Y4-235 nm test solution Y5-280 nm test solution Y6-325 nm
test solution

图 4 SZD 不同波长下 UPLC 全方指纹图谱

Fig. 4 UPLC fingerprint of SZD at different wavelengths

品溶液 (S1), 分别在 0、2、4、6、8、12、24 h 测定 UPLC 色谱图, 以龙胆苦苷为参照峰, 各特征峰

3.3 方法学考察

3.3.1 精密度试验 取“3.1.1”项下 SZD 全方供试品溶液 (S1) 连续进样 6 次, 因龙胆苦苷 (1 号峰) 色谱峰分离度好, 峰面积相对稳定, 故以龙胆苦苷为参照峰, 各特征共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均小于 1%, 说明仪器精密度良好, 符合指纹图谱的技术要求。

3.3.2 重复性试验 取“3.1.1”项下同一 SZD 样品制备的全方供试品溶液 (S1) 6 份, 进样分析, 计算各特征共有峰相对保留时间均小于 1%, 相对峰面积 RSD 均小于 2%, 说明本方法重复性好, 符合指纹图谱的技术要求。

3.3.3 稳定性试验 取“3.1.1”项下 SZD 全方供试

品溶液 (S1), 分别在 0、2、4、6、8、12、24 h 测定 UPLC 色谱图, 以龙胆苦苷为参照峰, 各特征峰相对保留时间 RSD 均小于 1%, 相对峰面积 RSD 均小于 5%, 说明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

3.4 15 批 SZD 指纹图谱总量统计矩参数计算及相似度评价

总量统计矩参数及信息量按文献报道^[23]方法计算,结果 15 批次 SZD 指纹图谱的峰数、峰面积、总量一阶矩、二阶矩、 H 、信息量的平均值分别为 176.60 个, 4.13×10^7 , 25.86 min, 241.41 min^2 , 4.62,

1.94×10^8 , RSD 分别为 4.52%、20.40%、5.40%、10.40%、2.25%、22.21%, 见表 2。15 批样品的总量一阶矩和 H 均小于 10%, 说明 SZD 15 批次药材质量稳定, 中药多成分体系总体化学结构的印迹作用趋势稳定^[24]。SZD 指纹图谱的总量统计矩相似度 0.882 8~0.995 3, 相似度较好, 见表 3。

表 2 15 批次样品峰数、峰面积、总量一阶矩、二阶矩、信息熵、信息量的平均值、标准偏差及 RSD

Table 2 Average, standard deviation and RSD of peak number, peak area, total first-order moment, second-order moment, information entropy, information amount of 15 batches of samples

指标	峰数/个	零阶矩	总量一阶矩/min	总量二阶矩/min ²	H	信息量
平均值	176.60	4.13×10^7	25.86	241.41	4.62	1.94×10^8
标准偏差	7.99	8.43×10^6	1.40	25.27	0.10	4.30×10^7
RSD/%	4.52	20.40	5.40	10.40	2.25	22.21

表 3 15 批 SZD 指纹图谱总量统计矩相似度

Table 3 Presidential moment similarity of fingerprint of 15 batches of SZD

样品	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15
S1	1.000 0	0.937 9	0.936 1	0.942 1	0.900 6	0.956 5	0.925 2	0.928 4	0.971 7	0.944 0	0.953 9	0.972 0	0.926 6	0.929 8	0.900 3
S2	0.937 9	1.000 0	0.959 4	0.938 9	0.899 4	0.958 3	0.911 3	0.986 3	0.945 5	0.912 1	0.981 7	0.961 5	0.961 1	0.915 0	0.960 7
S3	0.936 1	0.959 4	1.000 0	0.975 5	0.939 7	0.979 5	0.949 3	0.946 3	0.962 4	0.945 2	0.955 0	0.961 9	0.988 4	0.952 5	0.939 0
S4	0.942 1	0.938 9	0.975 5	1.000 0	0.954 4	0.977 9	0.972 4	0.925 2	0.970 2	0.969 5	0.943 3	0.961 1	0.964 6	0.976 1	0.914 6
S5	0.900 6	0.899 4	0.939 7	0.954 4	1.000 0	0.932 6	0.974 7	0.886 2	0.926 9	0.952 6	0.899 1	0.915 8	0.933 1	0.970 4	0.882 8
S6	0.956 5	0.958 3	0.979 5	0.977 9	0.932 6	1.000 0	0.951 2	0.944 8	0.982 1	0.953 8	0.965 2	0.981 2	0.969 4	0.955 4	0.929 5
S7	0.925 2	0.911 3	0.949 3	0.972 4	0.974 7	0.951 2	1.000 0	0.897 7	0.950 3	0.977 6	0.916 5	0.937 1	0.939 6	0.995 3	0.888 6
S8	0.928 4	0.986 3	0.946 3	0.925 2	0.886 2	0.944 8	0.897 7	1.000 0	0.932 9	0.898 8	0.974 4	0.949 5	0.949 9	0.901 4	0.962 1
S9	0.971 7	0.945 5	0.962 4	0.970 2	0.926 9	0.982 1	0.950 3	0.932 9	1.000 0	0.963 4	0.956 9	0.982 8	0.951 7	0.955 1	0.913 8
S10	0.944 0	0.912 1	0.945 2	0.969 5	0.952 6	0.953 8	0.977 6	0.898 8	0.963 4	1.000 0	0.921 4	0.946 6	0.934 2	0.981 0	0.884 8
S11	0.953 9	0.981 7	0.955 0	0.943 3	0.899 1	0.965 2	0.916 5	0.974 4	0.956 9	0.921 4	1.000 0	0.974 1	0.951 2	0.920 7	0.942 4
S12	0.972 0	0.961 5	0.961 9	0.961 1	0.915 8	0.981 2	0.937 1	0.949 5	0.982 8	0.946 6	0.974 1	1.000 0	0.953 5	0.941 8	0.926 6
S13	0.926 6	0.961 1	0.988 4	0.964 6	0.933 1	0.969 4	0.939 6	0.949 9	0.951 7	0.934 2	0.951 2	0.953 5	1.000 0	0.942 5	0.948 9
S14	0.929 8	0.915 0	0.952 5	0.976 1	0.970 4	0.955 4	0.995 3	0.901 4	0.955 1	0.981 0	0.920 7	0.941 8	0.942 5	1.000 0	0.891 6
S15	0.900 3	0.960 7	0.939 0	0.914 6	0.882 8	0.929 5	0.888 6	0.962 1	0.913 8	0.884 8	0.942 4	0.926 6	0.948 9	0.891 6	1.000 0

4 结论

H 也称申农熵, 信息论中的最大信息熵原理指出: 只有掌握部分信息的情况下要对某种分布做出判断时, 就应该取符合约束条件但 H 最大的概率分布, 这是可以做出的正确的选择, 任何其他的选择都意味着添加了其他的约束条件和假设, 这些约束和假设根据现掌握的信息是无法做出判断的。按最大信息熵原理, 从全部兼容的分布中挑选这样的分布, 它是在某些约束条件下 (通常是给定的某些随机变量的平均值) 使 H 达到极大值的分布。在中药指纹图谱中有很多特征峰, 在进行指纹图谱研究时,

其系统适应性条件, 样品质量浓度及响应率是确定的, 也就是指纹图谱的约束条件, 每 1 个特征峰就代表 1 个特征成分的信息, 峰面积所占的比例大小表示该成分所占比例的多少, 而每 1 个峰的比例是由响应率和构成比来决定的, 进样量不同, 中药指纹图谱也会随之改变, 因此在进行指纹图谱的研究的时候可以根据 H 的大小来确定最佳进样量。

从本研究可以看出, SZD 的指纹图谱所携带的信息量与进样量、体积流量、流动相、柱温相关, 是由 H 和峰面积共同决定的, 但是并不是峰面积越大, 指纹图谱分离越好, 峰面积对指纹图谱的影响

占次要地位, H 占主要地位, H 越大, 指纹图谱的峰数越多, 携带信息量越大, 故而可以考虑用计算 H 的办法来确定样品的最佳色谱条件。在指纹图谱上每个峰所占的比率是用比率 p_i 来表示的, 随着进样量的不同, 其指纹图谱也就不同, 色谱峰的洗脱条件也就不同。中药指纹图谱上有很多峰, 要想把每 1 个峰都分开是不可能的, 当新条件确定后, 又会因进样量、体积流量、流动相、柱温增加而产生同样的情况。因此用 H 来确定指纹图谱的最佳进样量、体积流量、流动相、柱温, 进而确定指纹图谱的最佳模式。因此, 依据信息熵最大化原则可科学优化中药及其复方指纹图谱, 为中药及复方的质量控制提供有效方案, 也为经典名方物质基准及制剂的研制及其质量控制奠定基础。

参考文献

- [1] 陈 畅, 程锦堂, 刘 安. 经典名方研发策略 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(9): 1814-1818.
- [2] 杨 明, 伍振峰, 郑 琴, 等. 中药经典名方开发与制剂研究的关键问题 [J]. 中草药, 2010, 41(10): 1590-1592.
- [3] 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.
- [4] 樊启猛, 贺 鹏, 李海英, 等. 经典名方物质基准研制的关键技术分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(15): 202-209.
- [5] 成颜芬, 江华娟, 王 琳, 等. 经典名方桃红四物汤化学指纹图谱及 9 种成分含量测定研究 [J]. 中草药, 2020, 51(3): 653-661.
- [6] 孙 昱. 经典名方研发的现存问题及相关考虑 [J]. 药物评价研究, 2020, 43(5): 969-972.
- [7] 刘 灿, 刘 伟编著. 难病奇方系列丛书身痛逐瘀汤 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2013.
- [8] 王清任·医林改错 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005.
- [9] 曹宁宁, 杨文静, 林映仙, 等. 经典名方泽泻汤的 HPLC 指纹图谱及多指标含量测定研究 [J]. 中草药, 2020, 51(10): 2773-2780.
- [10] 周 晋. 指纹图谱总量统计矩分析法的建立及对补阳还五汤的研究 [D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2006.
- [11] 王彦帅, 丁浩强, 郑鑫杰, 等. 经典名方泻白散物质基准 HPLC 指纹图谱的建立及 3 种指标成分含量测定 [J]. 中草药, 2020, 51(11): 2946-2953.
- [12] 涂正伟, 刘洪斌, 韩忠耀, 等. 基于信息熵赋权法的正交试验优化番石榴叶总黄酮提取工艺 [J]. 中草药, 2019, 50(21): 5260-5265.
- [13] 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.
- [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] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [16] 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.
- [17] 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.
- [18] 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.
- [19] 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.
- [20] 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.
- [21] 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.
- [22] 成颜芬, 王升菊, 吴亿晗, 等. HPLC-DAD 波长切换法同时测定身痛逐瘀汤物质基准中 8 种有效成分含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(4): 16-22.
- [23] 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, 43(2): 195-201.
- [24] 李海英, 贺 鹏, 樊启猛, 等. 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 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(15): 37-43.