

基于匹配频数统计矩法的六味地黄浓缩丸谱量学质量控制与评价研究

王玉钗^{1,2}, 刘 湘^{1,2#}, 田 丽^{1,2}, 李文姣^{1,2}, 谯 茹^{1,2}, 张伟龙^{1,2}, 潘 雪^{1,2}, 唐 昱^{1,3*}, 贺福元^{1,2,3,4*}

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 中医药超分子机理与数理特征化实验室, 湖南 长沙 410208
4. 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 基于超分子“印迹模板”理论, 划分、整合六味地黄浓缩丸 (Liuwei Dihuang Concentrated Pills, LDCP) 指纹图谱, 将其表征为物质单元并进行谱量学质量控制与评价研究。方法 采用匹配频数统计矩法划分、整合与表征 50 批 LDCP 指纹图谱物质单元, 根据朗伯-比尔定律将各物质单元总峰面积与出膏率进行多元线性回归建立谱量学方程, 进行谱量学研究。结果 50 批 LDCP 的 UPLC 指纹图谱被划分为 35 个物质单元 ($A_1 \sim A_{35}$), 经多元线性回归得到 35 个物质单元 ($A_1 \sim A_{35}$) 总峰面积与出膏率的谱量学方程: $P_T = 23.390 + 0.041\ 06\ A_1 - 9.100 \times 10^{-3}\ A_2 + 0.014\ 68\ A_3 + 0.027\ 98\ A_4 - 0.033\ 61\ A_5 - 0.042\ 25\ A_6 - 6.608 \times 10^{-3}\ A_7 - 0.025\ 90\ A_8 - 0.145\ 60\ A_9 + 0.165\ 00\ A_{10} - 0.027\ 50\ A_{11} + 3.408 \times 10^{-3}\ A_{12} - 0.021\ 03\ A_{13} - 1.070 \times 10^{-3}\ A_{14} + 2.833 \times 10^{-5}\ A_{15} - 8.774 \times 10^{-3}\ A_{16} + 0.018\ 52\ A_{17} - 1.882\ 9 \times 10^{-3}\ A_{18} + 0.023\ 61\ A_{19} + 8.566 \times 10^{-3}\ A_{20} + 0.013\ 94\ A_{21} - 5.894 \times 10^{-3}\ A_{22} - 0.012\ 27\ A_{23} - 0.014\ 91\ A_{24} + 1.792 \times 10^{-3}\ A_{25} - 1.571 \times 10^{-4}\ A_{26} - 3.942 \times 10^{-3}\ A_{27} - 0.054\ 80\ A_{28} + 0.083\ 15\ A_{29} + 0.119\ 30\ A_{30} - 0.060\ 71\ A_{31} - 0.083\ 42\ A_{32} + 0.014\ 96\ A_{33} - 2.989 \times 10^{-3}\ A_{34} + 0.063\ 17\ A_{35}$ ($r = 0.915$)。结论 该方法能以较高准确度划分、整合并表征 LDCP 指纹图谱物质单元, 且保留原指纹图谱整的总量统计矩特性, 其谱量学方程能较好的预测 LDCP 的出膏率与平均出膏率, 可为 LDCP 的质量控制提供新思路与新方法。

关键词: 匹配频数统计矩法; 谱量学; 六味地黄浓缩丸; 超分子“印迹模板”; 物质单元; 莫诺昔; 马钱苷; 丹皮酚

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)03-0757-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.03.007

Spectral quality control and evaluation research of Liuwei Dihuang Concentrated Pills based on matching frequency statistical moment method

WANG Yuchai^{1,2}, LIU Xiang^{1,2}, TIAN Li^{1,2}, LI Wenjiao^{1,2}, QIAO Ru^{1,2}, ZHANG Weilong^{1,2}, PAN Xue^{1,2}, TANG Yu^{1,3}, HE Fuyuan^{1,2,3,4}

1. School of Pharmacy, Hunan University of Tradition Chinese Medicine, Changsha 410208, China
2. Hunan Key Laboratory of Druggability and Preparation Modification for Traditional Chinese Medicine, Changsha 410208, China
3. Laboratory of Supramolecular Mechanism and Mathematic-Physics Chracterization for Chinese Materia Medicine, Hunan University of Tradition Chinese Medicine, Changsha 410208, China
4. Property and Pharmacodynamic Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine, National Administration of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410208, China

Abstract: Objective Based on the theory of supramolecular “imprinting template”, the fingerprint of Liuwei Dihuang Concentrated Pills (六味地黄丸浓缩丸, LDCP) was divided and integrated, and it was characterized as a material unit, and the spectral quality

收稿日期: 2023-07-09

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82274215); 湖南中医药大学校级科研项目 (2022XJZKC006); 校级研究生创新课题 (2022CX75); 湖南中医药大学科研基金项目 (2019XJJ024); 湖南中医药大学 2022 年大学生创新创业训练计划 (20220701)

作者简介: 王玉钗, 硕士研究生, 从事中医药超分子与数理特征化研究。Tel: 19896268532 E-mail: 2680733940@qq.com

#共同第一作者: 刘 湘, 硕士研究生, 主要从事中药药理学、中医药超分子与数理特征化研究。Tel: 13237489908 E-mail: 2519768007@qq.com

***通信作者:** 贺福元, 博士生导师, 教授, 主要从事中药药理学、中药药剂学、中医药超分子与数理特征化的研究工作。

Tel: (0731)85381372 E-mail: pharmsharking@163.com

唐 昱, 硕士, 实验师, 主要从事中药超分子与数理特征化研究。Tel: 15973142881 E-mail: 21253338@qq.com

control and evaluation research were conducted. **Methods** The matching frequency statistical moment method was used to divide, integrate and characterize the material units of 50 batches of LDCP fingerprints. According to Lambert-Beer's law, the total peak area of each material unit and the paste yield were subjected to multiple linear regression to establish a spectral equation for spectral research.

Results The UPLC fingerprints of 50 batches of LDCP were divided into 35 material units ($A_1 - A_{35}$). The spectral equations of the total peak area and the paste yield of the 35 material units ($A_1 - A_{35}$) were obtained by multiple linear regression: $P_T = 23.390 + 0.041\ 06\ A_1 - 9.100 \times 10^{-3}\ A_2 + 0.014\ 68\ A_3 + 0.027\ 98\ A_4 - 0.033\ 61\ A_5 - 0.042\ 25\ A_6 - 6.608 \times 10^{-3}\ A_7 - 0.025\ 90\ A_8 - 0.145\ 60\ A_9 + 0.165\ 00\ A_{10} - 0.027\ 50\ A_{11} + 3.408 \times 10^{-3}\ A_{12} - 0.021\ 03\ A_{13} - 1.070 \times 10^{-3}\ A_{14} + 2.833 \times 10^{-5}\ A_{15} - 8.774 \times 10^{-3}\ A_{16} + 0.018\ 52\ A_{17} - 1.882\ 9 \times 10^{-3}\ A_{18} + 0.023\ 61\ A_{19} + 8.566 \times 10^{-3}\ A_{20} + 0.013\ 94\ A_{21} - 5.894 \times 10^{-3}\ A_{22} - 0.012\ 27\ A_{23} - 0.014\ 91\ A_{24} + 1.792 \times 10^{-3}\ A_{25} - 1.571 \times 10^{-4}\ A_{26} - 3.942 \times 10^{-3}\ A_{27} - 0.054\ 80\ A_{28} + 0.083\ 15\ A_{29} + 0.119\ 30\ A_{30} - 0.060\ 71\ A_{31} - 0.083\ 42\ A_{32} + 0.014\ 96\ A_{33} - 2.989 \times 10^{-3}\ A_{34} + 0.063\ 17\ A_{35}$ ($r = 0.915$). **Conclusion** This method can divide, integrate and characterize the LDCP fingerprint material units with high accuracy, and retain the total statistical moment characteristics of the original fingerprint. Its spectral equation can better predict the paste rate of LDCP and the average paste rate, which can provide new ideas and methods for the quality control of LDCP.

Key words: matching frequency statistical moment method; spectroscopy; Liuwei Dihuang Concentrated Pills; supramolecular “imprinted template”; material unit; morroniside; loganin; paeonol

六味地黄丸 (Liuwei Dihuang Pills, LD) 为滋阴补肾^[1]的著名方剂,用于肾阴亏损、头晕耳鸣、腰膝酸软等症^[2-4],配方由熟地黄、山药、酒萸肉、茯苓、牡丹皮、泽泻^[5] 6 味中药组成的。六味地黄浓缩丸在 OTC 领域销量较高,然而,由于六味地黄浓缩丸 (Liuwei Dihuang Concentrated Pills, LDCP) 的生产厂家众多,所用原药材质量不一,生产工艺复杂多变,造成其质量参差不齐,影响临床疗效,故其质量控制与评价一直是研究的难点与热点。

目前,研究者们多通过测定单指标或多指标成分含量的方法,来进行 LDCP 的质量控制与评价研究,并通过系统聚类^[6]、主成分分析、偏最小二乘法^[7]和多指标含量测定^[8-9]等方法对指纹图谱进行分析。然而,LDCP 原药材受遗传多态性,生长环境和制剂技术的影响,具有化学成分复杂多变、多成分协同发挥整体调控疗效的特点,单一或多个有效成分的含量不能完全代表 LDCP 的整体质量。此外,整体性和模糊性是中药指纹图谱的 2 大特性,中药药效不是几个单成分简单的线性加合,而是应该从色谱的整体特征考虑“谱-效”关系。药效的强弱与有效成分含量的大小相关联,故作为衡量药效强弱的“量”也应该从色谱图整体出发,在整体的基础上阐明“谱”与“量”的关系。前期研究中,本团队建立了指纹图谱与中药成分含量的谱量学研究体系,包括成分群含量与浸出物含量之间的关系^[10-11]。该研究方法不以指纹图谱单个特征峰为信息单元,而是在超分子“印迹模板”理论的指导下,通过匹配频数统计矩法将色谱图划分为一簇簇的段带色谱峰成分簇,以成分簇为“物质单元”将成分群含量

与浸膏物含量有机结合起来,通过对“物质单元”的分析对中药化学成分含量进行预测。在实际生产应用中,浸膏量是中药的药效物质基础,是看得见的产品,且出膏率的高低波动对含量有极大影响,最容易体现在内含指标成分含量也随之同比波动^[12]。因此,本研究在匹配频数统计矩法的基础上,将谱量学应用于 LDCP 的质量控制研究中,将各物质单元对出膏率的贡献进行排序,并预测 LDCP 的出膏率与平均出膏率,确定 LDCP 的出膏率范围,为 LDCP 的质量控制提供新方法与新思路。

1 基本原理

1.1 中药成分群与色谱柱固定相按超分子“印迹模板”相互作用

超分子化学根源于配位化学,其以分子间多种弱相互作用力为研究对象,是研究非共价作用结合起来的分子有序组装体的化学^[13]。基于超分子化学,中药可看成由单分子,超分子,聚合超分子以及巨复超分子构成的复杂超分子体系,中药成分群是这一超分子体系的“印迹模板”聚集客体,能够按照“印迹模板”规律与色谱柱固定相产生作用^[14-15],在指纹图谱上呈现凹凸状分布,越接近“印迹模板”的成分,面积越大,出现的频率越高,反映到多个样品指纹图谱匹配时的频数就越大。

1.2 “物质单元”的划分与整合

在超分子化学理论的指导下,匹配频数统计矩法首先根据匹配频数的统计学原理划分出色谱峰成分簇^[16],获得段带色谱总峰面积。其次根据各“印迹模板”成分簇对应的匹配频数,采用总量统计矩原理划分出两两“印迹模板”成分簇的界线,将同

一“印迹模板”的成分簇整合为“物质单元”(段带色谱峰成分簇)进行表征。根据中药成分群在与色谱柱上的印迹作用规律,建立以“物质单元”印迹作用的总量统计矩参数为表征的评价体系。该法具

有极大地压缩色谱峰数、降低中药物质基础表征单元数目、保留原指纹图谱总量统计矩特征,不改变样本间变异性等优点。据此进行“物质单元”的划分与整合,其物质单元划分与整合思路见图 1。

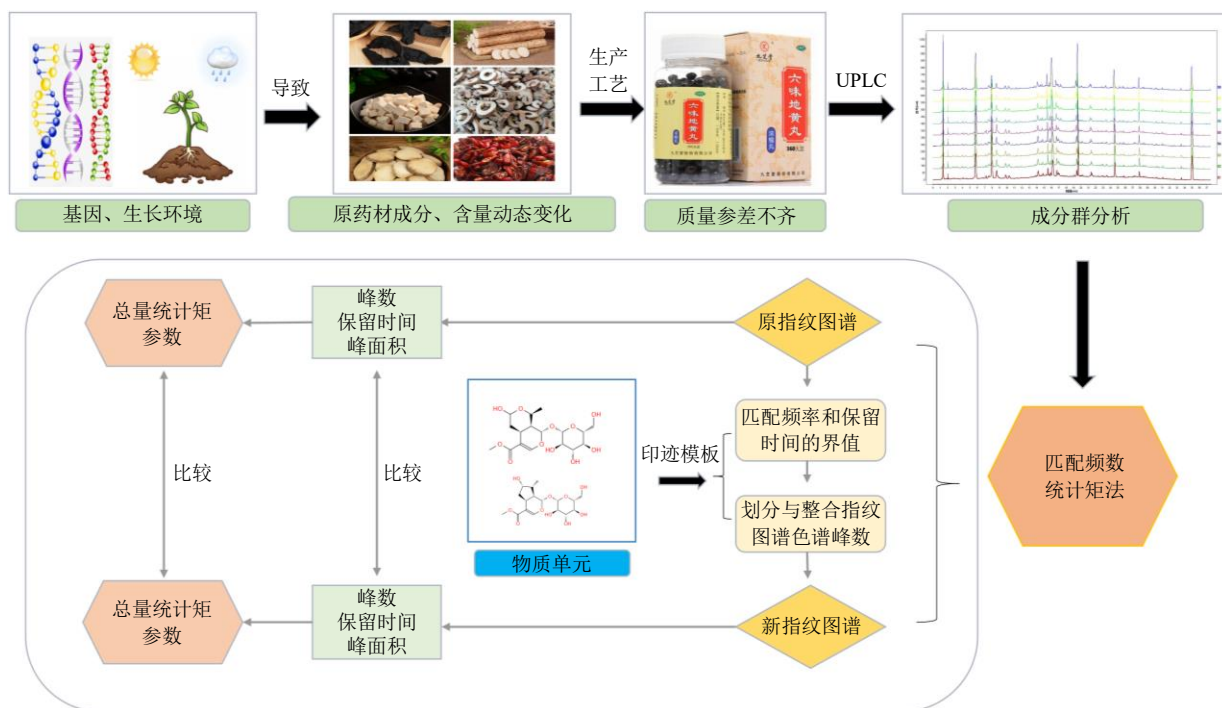


图 1 匹配频统计矩法划分与整合 LDCP 指纹图谱“印迹模板”物质单元的研究路线图

Fig. 1 Research roadmap of division and integration of “imprinting template” material units of LDCP fingerprint by matching frequency statistical moment method

1.3 谱量学

前期研究中,本团队对大黄的特征成分簇谱量学进行了初步的研究^[10]。研究表明,当物质的化学成分完全能在指纹图谱上进行表征时,其指纹图谱可以看成为由 m 个色谱峰的零阶矩 (AUC_T) 对物质总浓度 (C_T) 的反映。但由于中药成分复杂,含量高低不一,很多成分难以完全分离,故以吸光度大者为特征峰,与其周围的小峰构成物质单元,并将整张指纹图谱分成多个物质单元。然后,根据朗伯-比尔定律,物质的吸光度与浓度成正比,当进样量为一定值时,物质的含量与浓度呈正比,而物质的含量又峰面积成正比,与故原色谱峰的 AUC_T 与其对应的成分浓度呈线性关系。通过匹配频数统计矩法划分与整合后的各物质单元的总 AUC_T 与其物质单元内对应的成分的总浓度也呈线性关系,呈现线性叠加性。然后根据总量统计矩原理将 C_T 与段带成分簇的 AUC_T 进行了线性回归,发现二者之间具有良好的线性关系,从整体上分析了大黄化学成分总的含量,并建立了中药谱量学的数学模型与实验

方法。在后续研究中,本团队又对百合进行了谱量学研究^[11],并将其浸出率与多批次百合的各物质单元总峰面积进行了关联分析,同样获得了良好的线性关系,并找出了各物质单元对浸出率的贡献大小。

2 仪器与材料

2.1 仪器

Acquity UPLC H-Class 型超高效液相色谱仪,美国 Waters 公司; DZ-1AIV 型真空干燥箱,天津市泰勒斯仪器有限公司; H3-20KR 型台式高速冷冻离心机,湖南可成仪器开发有限公司; AUY220 型电子天平,岛津企业管理(中国)有限公司; SHZ-D (III) 型循环水式真空泵,巩义市予华仪器有限责任公司; KH-300DE 型超声波清洗器,昆山禾创超声仪器有限公司; DZKW-D-2 型电热恒温水浴锅,北京市永光明医疗仪器有限公司; FW-200 型高速万能粉碎机,北京中兴伟业世纪仪器有限公司。

2.2 试剂与药材

乙腈(批号 22035335)、甲醇(批号 22015112)均为色谱纯,美国天地试剂公司;甲酸,批号

20181201, 分析纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司; 甲醇, 批号 20200105, 分析纯, 太仓沪试试剂有限公司; 水, 批号 14310Z10J, 华润怡宝饮料有限公司; 0.22 μm 微孔滤膜, 批号 160531014, 天津津腾实验设备有限公司; 对照品莫诺苷(批号 B20872, HPLC 质量分数 $\geq 98\%$)、马钱苷(B20822, HPLC

质量分数 $\geq 98\%$)、丹皮酚(批号 B20266, HPLC 质量分数 $\geq 98\%$), 上海源叶生物科技有限公司; LDCP, 批准文号: 国药准字 Z43020145, 由九芝堂股份有限公司提供, 50 个样品均符合《中国药典》2020 年版标准, 每 8 丸相当于 3 g 饮片, 产品批号见表 1。

表 1 50 批 LDCP(S1~S50) 的产品信息和出膏率
Table 1 Information and paste rate of 50 batches of LDCP (S1 – S50)

编号	批号	出膏率/%	编号	批号	出膏率/%	编号	批号	出膏率/%	编号	批号	出膏率/%
S1	201812010	19.24	S14	201908042	24.02	S27	202005002	23.40	S40	202012175	20.03
S2	201812058	18.43	S15	201909002	22.35	S28	202005052	22.77	S41	202101034	19.15
S3	201902010	20.81	S16	201909045	22.55	S29	202006012	18.61	S42	202101196	19.72
S4	201902055	23.98	S17	201912003	23.12	S30	202006073	19.73	S43	202102020	22.90
S5	201904004	25.27	S18	201912068	23.85	S31	202008002	20.13	S44	202102133	23.48
S6	201904037	20.73	S19	202001016	20.30	S32	202008028	19.98	S45	202103053	22.40
S7	201905003	21.61	S20	202001054	24.09	S33	202009003	20.03	S46	202103183	22.90
S8	201905071	20.52	S21	202002004	23.87	S34	202009062	19.65	S47	202104210	23.48
S9	201906007	22.40	S22	202002046	22.69	S35	202010004	22.77	S48	202104040	22.66
S10	201906074	22.90	S23	202003010	23.14	S36	202010065	18.61	S49	202105034	23.54
S11	201907002	23.48	S24	202003065	23.75	S37	202011006	19.73	S50	202105218	23.98
S12	201907052	24.06	S25	202004004	23.60	S38	202011070	20.13			
S13	201908006	23.96	S26	202004041	23.05	S39	202012026	19.98			

3 方法与结果

3.1 供试品溶液的制备

参考《中国药典》2020 年版^[17]进行 LDCP 供试品溶液制备: LDCP 粉碎后过 4 号筛, 精密称定粉末 1.0 g, 置于 50 mL 圆底形瓶中, 加入 50%甲醇 15 mL, 称定并记录质量。90 $^{\circ}\text{C}$ 水浴回流提取 1 h, 用 50%甲醇补足减失的质量, 提取液于 10 000 r/min 离心机离心 10 min, 取上清液过 0.22 μm 微孔滤膜, 置于进样小瓶中, 待测。

3.2 对照品溶液的制备

分别精密称定莫诺苷、马钱苷、丹皮酚各 1.00 mg, 置 1 mL 量瓶中, 加 50%甲醇定容至刻度, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 取各对照品溶液各 200 μL , 置 1 mL 量瓶中, 加 50%甲醇定容至刻度, 制成混合对照品溶液。

3.3 色谱条件

色谱柱为 Waters Acquity UPLC BEH C_{18} (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7 μm); 流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液(A), 梯度洗脱: 0~0.5 min, 0.1%乙腈; 0.5~20.5 min, 0.1%~18.0%乙腈; 20.5~23.5 min,

18.0%~21.0%乙腈; 23.5~30.5 min, 21.0%~35.0%乙腈; 30.5~34.5 min, 35.0%~45.0%乙腈; 34.5~36.5 min, 45.0%~68.0%乙腈; 36.5~37.5 min, 68.0%~100.0%乙腈; 柱温 35 $^{\circ}\text{C}$; 体积流量 0.2 mL/min; 进样量 2 μL ; 全波长扫描 200~400 nm, 图例显示选取波长 250 nm。

3.4 方法学考察

3.4.1 精密度试验 取“3.1”项下配制的供试品溶液(S1), 在“3.3”项的色谱条件下连续进样 6 次, 考察各共有峰的相对保留时间与相对峰面积。结果显示, 各共有峰相对保留时间的 RSD 为 0.05%~0.17%, 各共有峰相对峰面积的 RSD 为 0.62%~2.23%, 表明仪器精密度良好。

3.4.2 重复性试验 取 LDCP 粉末(S1) 6 份, 每份精密称取 1.0 g, 按照“3.1”项下方法平行配制 LDCP 供试品溶液 6 份, 在“3.3”项下色谱条件进样测定, 考察各共有峰的相对保留时间与相对峰面积, 结果显示, 共有峰相对保留时间的 RSD 为 0.04%~0.12%, 各共有峰相对峰面积的 RSD 为 1.30%~2.96%, 表明方法重复性良好。

3.4.3 稳定性试验 精密称取 LDCP 粉末 (S1) 1.0 g, 按照“3.1”项下方法制备供试品溶液, 按照“3.3”项下色谱条件, 在制备后 0、4、8、16、24、48 h 进样分析, 考察各共有峰的相对保留时间与相对峰面积。结果显示, 各共有峰相对保留时间的 RSD 为 0.26%~1.51%, 各共有峰相对峰面积的 RSD 为 0.66%~2.34%, 结果表明供试品溶液在 48 h 内稳定性良好。

3.5 出膏率测定

取 LDCP 待测定溶液, 置已干燥至恒定质量的蒸发皿中^[18], 在水浴上蒸干后, 于 105 °C 干燥至恒

定质量, 移至干燥器中, 冷却至室温, 迅速精密称定质量, 以干燥品质量计算各对应条件下的出膏率, 结果见表 1。

3.6 50 批 LDCP 的 UPLC 指纹图谱分析

取“2.3.1”项下方法制备的 LDCP 供试品溶液和“2.3.2”项下制备的混合对照品溶液, 按上述色谱条件进行测定, 得到 50 批 LDCP 的 UPLC 指纹图谱, 将其导入《中药色谱指纹相似度评价系统》(2012 版) 进行分析, 得到指纹图谱叠加图 (图 2), 以对照品指认出 1 号峰为莫诺昔, 2 号峰为马钱苷, 3 号峰为丹皮酚 (图 3)。

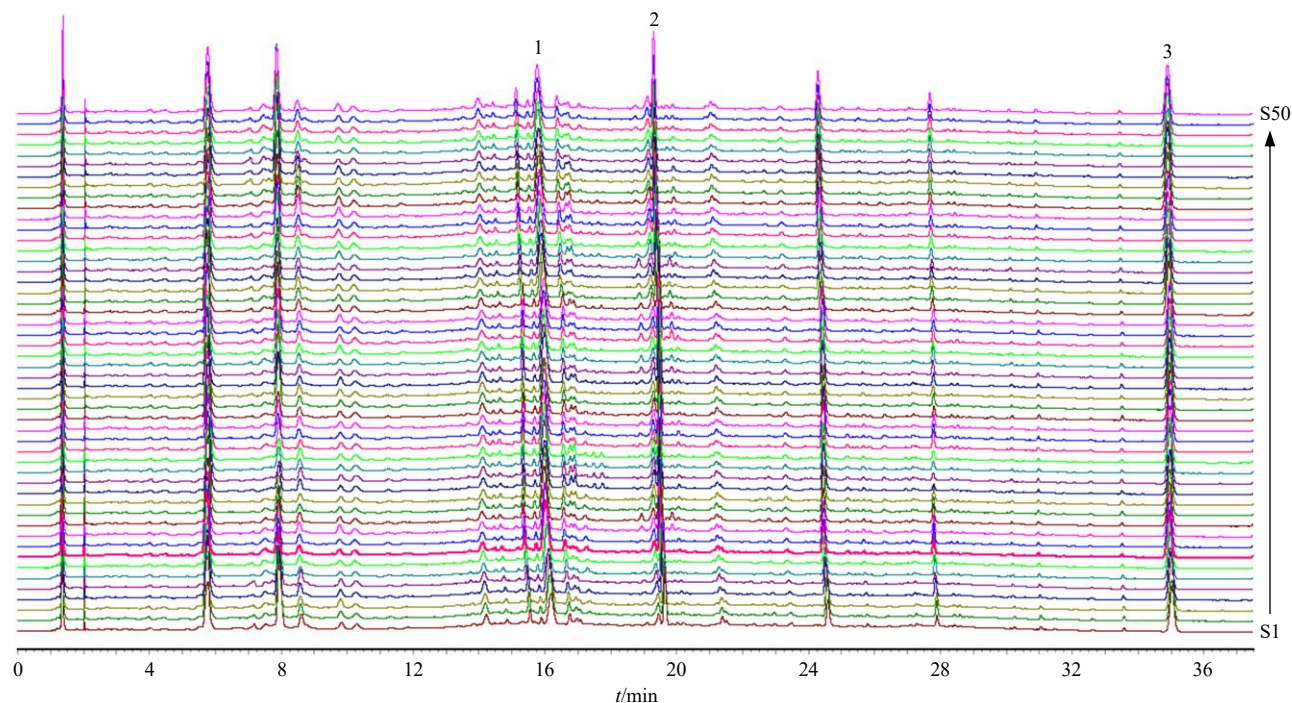


图 2 50 批 LDCP (S1~S50) 的 UPLC 指纹图谱

Fig. 2 UPLC fingerprint of 50 batches of LDCP (S1 – S50)

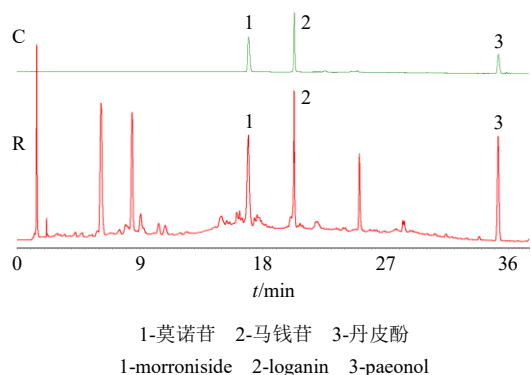


图 3 50 批 LDCP 对照谱峰 (R) 及混合对照品 (C) 的指纹图谱

Fig. 3 50 batches of LDCP reference peak (R) and mixed reference substance (C) fingerprint

3.7 50 批 LDCP 指纹图谱物质单元的划分与整合

将 50 批 LDCP 指纹图谱进行全峰匹配后获得不同色谱峰的匹配频数, 通过匹配频数法计算出 50 批 LDCP 指纹图谱划分成“印迹模板”中心成分的最少匹配频数为 32.92 个, 所以取大于等于匹配数 33 的匹配频数色谱峰为物质单元中心成分, 共确定了 35 个物质单元 (A₁~A₃₅); 再根据总量统计原理划分出两两物质单元间的保留时间的界值, 并计算出新的保留时间和峰面积, 50 批 LDCP 压缩后生成的新指纹图谱信息见表 2 (S1~S50)。

3.8 匹配频数统计矩法划分与整合前后的指纹图谱的总量统计矩参数对比

导出 50 批 LDCP 的 UPLC 指纹图谱, 计算总

表 2 50 批样品 (S1~S50) 划分与整合后的新指纹图谱
Table 2 New fingerprints of 50 batches of samples (S1 – S50) after division and integration

物质 单元	<i>t_R</i> /min	相对峰面积												
		S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13
A ₁	1.203	66.80	82.65	94.26	102.90	100.70	90.05	106.20	104.40	95.60	100.50	86.90	85.33	118.49
A ₂	1.428	816.20	1 212.00	1 287.00	1 284.00	1 278.00	1 150.00	1 193.00	1 287.00	1 261.00	1 224.00	1 303.65	1 242.61	1 367.27
A ₃	1.932	171.30	278.80	289.10	316.80	319.40	313.30	242.20	241.70	263.80	284.10	254.04	270.32	316.26
A ₄	2.168	57.84	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	14.89	0.00	0.00
A ₅	2.459	63.37	63.09	73.60	64.83	65.63	67.30	52.89	53.99	51.78	51.72	49.00	49.45	62.75
A ₆	2.785	57.04	125.40	129.80	162.10	169.60	158.20	112.90	127.90	126.90	131.70	126.64	126.95	147.42
A ₇	2.972	49.83	83.34	96.04	113.20	126.80	111.70	113.50	102.60	107.80	109.80	110.18	114.03	118.98
A ₈	3.293	0.00	107.30	130.40	142.70	154.30	113.10	125.40	120.10	136.80	131.50	131.74	134.01	138.86
A ₉	3.568	254.50	79.93	89.70	131.40	135.80	136.40	90.50	94.57	85.45	90.67	87.75	87.09	95.24
A ₁₀	4.024	108.00	145.00	162.10	220.50	227.20	209.00	166.80	170.90	159.70	169.90	166.27	161.98	181.08
A ₁₁	4.487	210.20	150.70	181.00	264.70	297.40	265.20	188.20	191.00	190.70	194.70	194.73	188.93	215.08
A ₁₂	4.970	0.00	57.82	57.09	134.70	136.50	125.80	64.27	67.86	65.52	62.81	69.83	63.76	73.14
A ₁₃	5.171	337.60	49.68	57.62	98.91	110.50	87.71	61.23	56.74	57.17	64.47	55.92	57.94	66.98
A ₁₄	5.560	0.00	0.00	146.40	214.70	224.00	231.00	0.00	142.10	132.40	140.90	0.00	0.00	0.00
A ₁₅	5.774	0.00	1 957.00	2 300.00	2 386.00	2 535.00	2 033.00	2 339.00	2 296.00	2 395.00	2 401.00	2 527.74	2 477.37	3 000.34
A ₁₆	6.502	352.90	260.20	223.90	385.00	418.10	413.70	221.10	227.00	216.60	226.20	238.69	229.56	242.87
A ₁₇	7.100	2 253.00	260.60	282.90	413.90	426.50	522.70	203.70	249.00	193.80	201.80	238.46	215.87	209.06
A ₁₈	7.692	191.80	3 179.00	2 513.00	2 400.00	2 460.00	3 812.00	1 716.00	2 576.00	1 417.00	1 339.00	1 638.96	1 308.44	1 329.80
A ₁₉	8.310	379.20	0.00	94.29	149.50	165.70	171.90	69.14	79.53	80.64	97.83	104.67	96.54	72.74
A ₂₀	8.541	186.30	836.00	578.10	638.50	717.40	805.40	412.30	487.40	412.50	425.70	503.93	568.28	318.22
A ₂₁	8.816	430.30	53.30	155.00	313.20	309.40	338.80	132.30	155.30	132.60	136.40	128.24	0.00	198.72
A ₂₂	9.381	2 937.00	51.58	47.74	139.30	147.90	125.80	106.40	103.90	100.00	106.80	108.90	113.55	119.82
A ₂₃	9.774	127.30	295.90	333.90	653.30	599.10	602.80	223.40	251.70	249.00	246.70	372.90	286.38	266.08
A ₂₄	10.384	1 003.00	262.00	274.00	489.90	532.80	546.40	217.60	243.50	221.10	263.90	256.98	231.43	242.34
A ₂₅	14.685	12 660.00	7 022.00	8 187.00	12 117.00	12 809.00	11 911.00	7 819.00	7 523.00	8 214.00	8 257.00	7 967.45	8 185.83	8 781.88
A ₂₆	22.747	16 135.00	9 018.00	11 843.00	14 582.00	15 242.00	14 818.00	10 414.00	9 615.00	11 080.00	11 295.00	9 594.47	11 405.22	11 182.90
A ₂₇	29.511	2 408.00	596.70	1 751.00	1 984.00	2 079.00	1 665.00	1 504.00	927.00	1 477.00	1 590.00	527.41	1 385.45	1 505.65
A ₂₈	31.407	86.96	18.75	63.25	82.21	81.55	27.11	67.23	24.06	63.60	65.03	26.56	55.57	69.19
A ₂₉	31.733	68.97	7.61	42.81	54.21	56.36	0.00	49.63	13.40	50.14	59.34	22.46	47.92	57.59
A ₃₀	32.100	50.44	12.63	37.76	54.14	47.90	10.25	39.46	12.82	40.41	42.12	11.53	33.74	39.41
A ₃₁	32.471	50.96	27.71	40.89	60.51	47.13	26.66	50.37	33.75	50.68	52.98	30.41	46.05	55.21
A ₃₂	32.925	0.00	0.00	0.00	7.85	0.00	0.00	7.76	5.60	5.60	6.72	0.00	5.12	5.70
A ₃₃	33.789	63.77	64.12	79.52	77.57	71.70	62.97	70.44	69.17	63.68	64.31	63.14	63.53	71.27
A ₃₄	34.841	1 743.00	1 634.00	1 482.00	1 797.00	1 732.00	1 518.00	1 711.00	1 707.00	1 741.00	1 623.00	1 586.23	1 615.53	1 676.08
A ₃₅	36.445	31.78	19.86	29.18	27.52	33.87	23.49	27.42	24.00	24.25	21.74	27.35	28.16	34.40
物质 单元	<i>t_R</i> /min	相对峰面积												
		S14	S15	S16	S17	S18	S19	S20	S21	S22	S23	S24	S25	S26
A ₁	1.203	115.49	100.49	100.71	101.54	103.77	0.00	83.93	81.07	91.71	110.83	123.21	59.29	125.03
A ₂	1.428	1 254.28	1 431.25	1 371.15	1 442.66	1 362.45	1 467.23	1 209.32	1 323.89	1 340.74	1 361.63	1 307.75	992.36	1 330.31
A ₃	1.932	247.67	226.04	247.73	198.86	241.31	103.06	86.13	103.82	89.81	243.18	242.07	86.43	263.50
A ₄	2.168	53.95	48.01	55.09	95.81	53.96	14.13	12.96	0.00	14.45	52.88	55.29	77.43	56.16
A ₅	2.459	54.44	52.59	59.57	60.46	56.60	21.37	17.63	20.10	20.62	57.39	60.32	65.12	68.55
A ₆	2.785	142.74	131.50	144.83	151.11	152.99	84.12	95.33	118.78	98.28	157.42	148.29	4.35	174.97
A ₇	2.972	108.15	94.90	118.66	108.96	106.72	63.71	55.88	57.25	60.67	95.61	96.21	98.14	106.32
A ₈	3.293	140.09	94.78	128.12	128.81	132.96	74.99	73.41	79.37	76.27	112.27	101.92	152.46	123.37
A ₉	3.568	90.48	67.02	96.96	97.78	99.08	38.03	34.51	33.32	36.03	92.40	89.38	81.78	101.91
A ₁₀	4.024	173.05	129.57	178.38	175.40	177.22	114.55	110.02	103.42	106.01	172.29	172.48	58.87	184.28
A ₁₁	4.487	200.30	138.37	204.92	206.33	197.10	142.06	110.51	112.56	115.85	188.71	201.16	44.15	213.60

表 2 (续)

物质 单元	<i>t_R</i> /min	相对峰面积												
		S14	S15	S16	S17	S18	S19	S20	S21	S22	S23	S24	S25	S26
A ₁₂	4.970	71.88	30.09	73.01	72.77	73.86	31.06	29.63	27.55	31.03	65.40	68.25	310.13	78.99
A ₁₃	5.171	68.99	30.08	70.26	67.69	65.25	33.96	35.43	35.01	32.82	63.39	62.71	35.03	73.52
A ₁₄	5.560	148.72	97.71	154.29	142.24	139.45	112.48	117.90	109.81	109.05	148.18	163.01	132.40	170.62
A ₁₅	5.774	2 761.03	2 721.70	3 005.32	2 862.79	2 798.74	2 717.82	2 628.68	2 771.66	2 774.21	2 511.32	2 227.81	103.00	2 775.45
A ₁₆	6.502	232.73	127.62	254.59	257.65	252.38	182.60	193.55	176.92	175.86	235.95	218.77	2 723.13	235.37
A ₁₇	7.100	204.99	133.47	244.76	252.01	238.70	173.67	184.82	194.37	178.40	251.26	251.16	331.94	223.66
A ₁₈	7.692	1 258.66	1 045.75	1 104.61	1 212.57	1 141.78	1 434.02	1 237.17	1 332.75	1 250.16	1 995.70	2 453.88	198.37	1 525.13
A ₁₉	8.310	67.70	43.32	103.37	104.45	101.33	74.58	75.08	86.87	71.37	81.79	76.11	364.26	75.21
A ₂₀	8.541	371.28	411.98	654.97	417.85	489.40	336.67	354.01	487.99	372.31	396.32	423.93	0.00	428.81
A ₂₁	8.816	122.26	31.17	0.00	189.67	134.49	166.27	175.44	100.29	167.96	210.79	229.25	1 876.50	142.92
A ₂₂	9.381	106.57	43.42	207.35	130.87	146.02	104.74	109.57	99.08	114.04	104.36	101.10	638.27	109.02
A ₂₃	9.774	246.24	200.78	291.22	267.74	268.63	284.31	279.01	285.78	274.89	295.62	312.70	152.25	362.14
A ₂₄	10.384	246.55	252.05	309.38	305.53	286.81	258.62	283.86	264.15	264.22	249.35	251.59	438.69	253.86
A ₂₅	14.685	8 051.95	8 663.95	9 179.56	8 849.23	8 810.23	9 001.73	8 629.21	8 582.59	8 617.87	8 139.26	7 073.32	9 282.40	8 441.45
A ₂₆	22.747	9 278.97	10 854.91	11 306.19	11 128.10	10 336.07	11 623.51	11 465.91	11 614.18	10 555.24	10 974.41	7 581.19	7 227.01	10 760.69
A ₂₇	29.511	833.51	1 390.01	1 452.07	1 434.03	1 216.78	1 541.23	1 405.77	1 401.49	1 374.42	1 553.62	512.97	937.21	1 400.77
A ₂₈	31.407	24.40	56.43	61.43	59.95	53.78	66.02	57.17	58.25	59.98	71.54	27.83	34.59	61.40
A ₂₉	31.733	20.32	43.69	50.19	49.77	39.56	57.91	49.24	46.83	45.86	49.33	10.37	17.73	46.66
A ₃₀	32.100	11.39	32.85	39.15	42.98	30.47	34.07	28.83	31.70	35.87	41.68	11.48	13.31	36.11
A ₃₁	32.471	37.57	45.21	60.42	46.50	44.77	51.93	50.14	42.60	55.31	51.94	26.93	33.88	55.08
A ₃₂	32.925	3.63	0.00	6.77	6.85	4.67	5.80	4.81	3.54	5.60	6.09	5.23	0.00	5.09
A ₃₃	33.789	66.81	67.64	83.79	59.89	60.09	58.87	62.80	62.44	93.47	69.75	63.53	76.63	85.15
A ₃₄	34.841	1 790.10	1 644.28	2 042.53	1 819.37	1 657.81	1 682.12	1 906.61	1 865.65	1 846.86	1 742.53	1 741.16	1 602.20	1 852.10
A ₃₅	36.445	27.61	30.57	33.86	33.09	30.26	30.84	26.73	28.45	29.89	29.20	28.58	26.99	31.71
物质 单元	<i>t_R</i> /min	相对峰面积												
		S27	S28	S29	S30	S31	S32	S33	S34	S35	S36	S37	S38	S39
A ₁	1.203	99.45	106.00	105.70	104.33	98.94	95.17	54.24	108.93	99.85	98.04	102.56	102.27	92.79
A ₂	1.428	1 255.52	1 322.64	1 382.20	1 412.55	1 327.70	1 219.38	815.22	1 336.47	1 262.87	1 329.41	1 361.94	1 339.44	1 195.33
A ₃	1.932	236.32	247.80	204.72	212.34	196.40	189.28	118.35	258.68	275.30	255.28	206.79	256.49	236.82
A ₄	2.168	52.37	57.00	55.74	58.43	53.46	52.77	0.00	58.39	65.44	61.53	68.12	53.18	50.37
A ₅	2.459	56.09	59.47	59.70	65.73	56.26	50.35	118.21	63.02	76.56	66.50	70.08	61.56	53.51
A ₆	2.785	150.31	152.51	149.00	171.88	155.02	154.28	33.02	174.66	192.86	207.90	198.51	168.18	167.42
A ₇	2.972	102.44	115.65	105.81	110.89	102.95	104.41	0.00	115.51	132.02	112.52	116.04	109.61	91.70
A ₈	3.293	124.26	122.35	105.54	109.36	108.46	102.36	0.00	127.64	151.40	149.04	144.21	109.28	105.76
A ₉	3.568	96.20	103.66	95.64	106.57	95.78	90.95	174.70	106.59	145.60	126.59	136.54	103.24	92.47
A ₁₀	4.024	178.50	181.45	173.55	181.15	168.16	165.19	85.09	182.67	229.67	207.54	224.40	166.77	159.46
A ₁₁	4.487	196.81	214.45	210.38	206.88	186.91	176.47	23.86	213.15	309.58	259.03	290.48	222.11	215.00
A ₁₂	4.970	74.69	79.60	74.39	77.40	72.30	73.52	66.14	89.43	142.15	114.47	129.66	67.75	67.85
A ₁₃	5.171	64.93	66.51	71.19	71.16	68.11	68.57	115.91	78.58	121.17	100.47	104.35	65.79	60.92
A ₁₄	5.560	153.15	178.69	162.85	162.91	158.09	149.94	0.00	173.90	232.47	206.61	233.47	146.19	157.43
A ₁₅	5.774	2 446.16	2 475.91	2 336.88	2 713.48	2 501.13	2 443.26	105.07	2 725.45	2 363.85	2 392.36	2 411.92	2 350.88	2 340.85
A ₁₆	6.502	231.27	247.72	237.01	252.33	231.50	231.00	2 638.53	272.06	438.18	375.13	409.07	232.54	216.45
A ₁₇	7.100	246.30	253.44	244.07	279.95	286.67	260.27	188.12	274.62	434.93	425.50	429.85	235.02	210.97
A ₁₈	7.692	2 019.43	2 082.25	1 875.21	2 165.61	2 595.13	1 996.06	242.44	1 967.18	2 405.47	2 512.27	2 724.32	1 500.75	1 456.03
A ₁₉	8.310	85.66	90.51	86.37	95.81	92.13	86.09	0.00	101.41	182.07	169.53	166.90	100.88	83.79
A ₂₀	8.541	393.74	398.44	372.05	415.13	433.05	479.48	480.95	433.40	577.92	564.10	566.54	415.10	417.89
A ₂₁	8.816	224.68	223.79	216.44	229.77	252.71	131.84	2 458.07	241.46	419.92	346.96	402.15	188.32	152.25
A ₂₂	9.381	114.72	113.33	125.70	118.66	110.43	106.59	126.45	126.12	325.83	263.16	310.00	132.22	146.36
A ₂₃	9.774	266.35	256.72	367.95	358.78	276.24	326.88	748.81	281.94	485.82	426.48	485.24	293.58	330.78

表 2 (续)

物质 单元	<i>t_R</i> /min	相对峰面积												
		S27	S28	S29	S30	S31	S32	S33	S34	S35	S36	S37	S38	S39
A ₂₄	10.384	276.61	295.20	264.18	309.60	303.43	283.64	190.23	324.51	757.49	627.26	712.11	272.26	263.37
A ₂₅	14.685	8 208.44	8 190.28	7 915.38	8 056.03	8 084.65	7 801.63	11 998.53	8 972.48	12 532.07	11 227.23	12 139.23	7 583.42	8 135.36
A ₂₆	22.747	10 551.48	9 146.83	8 747.13	9 616.66	11 652.18	11 295.07	14 436.29	11 821.97	15 166.59	12 962.95	14 174.75	8 689.70	10 321.86
A ₂₇	29.511	1 422.90	586.54	576.66	619.34	1 688.33	1 573.16	1 895.80	1 564.66	2 138.95	1 211.93	1 919.49	562.75	1 260.16
A ₂₈	31.407	61.64	27.77	28.21	30.42	65.58	66.78	77.45	66.41	90.17	21.61	77.24	26.76	54.41
A ₂₉	31.733	40.51	16.67	14.51	15.71	47.93	47.76	59.72	47.81	67.68	12.55	57.26	20.41	39.65
A ₃₀	32.100	38.97	12.05	11.70	12.70	40.22	41.01	67.40	38.69	75.19	11.72	53.67	12.77	38.94
A ₃₁	32.471	45.72	34.91	32.33	33.28	42.36	47.60	45.03	47.96	45.70	30.86	58.03	37.12	38.80
A ₃₂	32.925	5.61	5.29	4.52	4.63	0.00	5.52	9.90	5.30	8.22	3.83	8.21	3.43	6.31
A ₃₃	33.789	81.17	78.00	66.66	66.07	67.73	59.34	58.26	60.49	63.86	70.02	72.31	89.07	77.08
A ₃₄	34.841	1 778.17	1 885.88	1 835.13	1 751.66	1 890.79	1 585.74	1 841.37	1 966.46	1 860.66	1 830.47	1 665.55	1 798.33	1 969.92
A ₃₅	36.445	24.38	27.40	30.06	30.74	23.62	27.01	28.79	27.18	22.97	27.24	27.92	30.97	28.99
物质 单元	<i>t_R</i> /min	相对峰面积												
		S40	S41	S42	S43	S44	S45	S46	S47	S48	S49	S50		
A ₁	1.203	103.57	108.16	98.29	94.25	101.05	91.80	96.32	100.00	96.73	103.23	101.67		
A ₂	1.428	1 185.40	1 488.17	1 224.29	1 157.45	1 274.16	1 143.85	1 186.58	1 229.95	1 208.59	1 210.42	1 083.30		
A ₃	1.932	265.44	291.84	249.31	271.43	256.38	265.40	206.90	275.11	196.10	207.87	230.05		
A ₄	2.168	62.29	73.70	61.83	76.56	60.84	64.81	70.80	72.52	66.52	67.89	116.86		
A ₅	2.459	66.32	80.44	56.36	70.62	62.65	68.59	75.44	64.77	66.11	66.63	72.07		
A ₆	2.785	206.50	230.77	184.14	208.46	183.71	208.56	210.46	213.01	189.87	197.02	183.65		
A ₇	2.972	106.54	139.61	103.34	117.07	98.64	107.32	117.92	116.74	106.91	122.34	133.31		
A ₈	3.293	145.82	162.76	113.81	129.57	116.18	135.22	130.96	132.49	117.76	147.40	138.15		
A ₉	3.568	132.80	158.31	104.27	153.02	104.78	131.49	148.80	135.65	133.58	129.33	146.15		
A ₁₀	4.024	209.90	235.87	174.12	218.74	173.75	206.92	230.47	212.69	203.65	215.78	216.08		
A ₁₁	4.487	298.91	334.23	216.55	293.10	214.70	272.36	281.00	281.67	249.39	266.56	307.15		
A ₁₂	4.970	122.07	145.97	73.12	126.54	71.86	113.05	142.65	110.15	113.82	108.99	124.92		
A ₁₃	5.171	101.06	121.59	69.11	116.45	62.28	100.07	107.58	96.99	89.35	97.70	107.35		
A ₁₄	5.560	233.51	263.59	169.60	240.15	172.81	216.15	235.69	212.04	224.02	192.54	205.17		
A ₁₅	5.774	2 520.02	2 613.37	2 471.26	2 374.45	2 163.60	2 339.23	2 188.80	2 466.06	2 028.17	2 286.44	2 133.21		
A ₁₆	6.502	380.49	460.69	260.62	392.53	242.08	346.85	443.82	360.79	359.59	358.99	406.54		
A ₁₇	7.100	389.04	498.84	259.66	463.23	287.62	372.64	509.36	409.91	468.69	387.61	397.45		
A ₁₈	7.692	2 442.21	2 796.12	1 867.04	2 646.38	2 105.89	2 721.00	3 596.40	3 065.60	4 294.81	3 098.28	2 781.42		
A ₁₉	8.310	150.90	189.20	94.22	175.91	108.16	153.29	196.11	147.83	151.83	133.73	166.13		
A ₂₀	8.541	557.58	571.20	436.25	805.65	698.16	713.38	744.21	667.92	489.12	478.46	500.70		
A ₂₁	8.816	356.29	432.80	189.76	393.88	269.35	333.75	540.55	431.67	484.03	423.55	476.47		
A ₂₂	9.381	306.78	351.74	130.05	318.14	90.15	252.59	217.74	165.24	178.62	162.72	218.81		
A ₂₃	9.774	473.46	557.57	329.75	572.84	395.46	444.42	490.74	471.01	328.96	289.72	464.67		
A ₂₄	10.384	663.05	747.04	280.14	701.26	312.72	559.07	735.49	550.60	563.27	550.50	674.29		
A ₂₅	14.685	11 320.10	13 323.05	8 291.38	12 013.20	8 067.59	10 392.98	12 052.36	10 533.04	9 818.00	9 819.43	11 125.08		
A ₂₆	22.747	12 965.39	15 300.41	11 118.98	14 358.62	9 321.87	10 796.34	15 663.52	10 517.62	9 976.66	9 956.99	13 233.14		
A ₂₇	29.511	1 675.92	1 870.36	1 482.57	2 062.45	626.24	632.04	2 492.04	599.93	606.00	601.31	1 948.69		
A ₂₈	31.407	68.53	71.03	66.93	67.76	25.57	27.48	95.87	31.25	23.78	24.58	85.16		
A ₂₉	31.733	47.37	53.20	63.44	56.62	12.68	13.83	47.27	13.40	9.94	14.06	66.43		
A ₃₀	32.100	53.37	52.61	41.70	49.03	13.66	15.10	63.55	16.48	12.37	12.65	71.73		
A ₃₁	32.471	35.46	37.43	41.55	26.41	26.94	28.39	34.05	26.27	23.64	23.95	47.18		
A ₃₂	32.925	0.00	0.00	6.54	0.00	0.00	4.61	0.00	0.00	0.00	5.87	9.41		
A ₃₃	33.789	66.73	68.52	71.61	55.71	58.80	77.92	66.82	61.57	69.14	62.61	69.15		
A ₃₄	34.841	1 821.40	1 799.34	1 994.81	1 780.40	2 049.87	1 701.00	1 643.64	1 836.02	1 686.03	1 750.34	1 940.44		
A ₃₅	36.445	28.59	30.58	28.65	27.72	37.28	33.85	20.46	36.68	29.19	25.23	28.73		

量零阶矩、一阶矩、二阶矩^[9]，并对划分与整合前后的指纹图谱进行总量统计矩参数比较，结果见表 3。结果发现，表 3 中峰数目整合前后的 RSD 变化很大，均大于 80%。整合前各批次峰数目不等，RSD 为 2.39%，整合后各批次峰数目相同，RSD 为 0。总量零阶矩的 RSD 为 0，表明整合前后的色谱总峰面积保持不变；整合前后的总量一阶矩和总量二阶

矩的 RSD 均在 5% 以内，变化微小，表明总量统计矩参数总体稳定。

由此发现，匹配频数统计矩法在压缩色谱峰数的同时，还保留了原指纹图谱的总量统计矩特性，能以较高准确度来划分与整合 LDCP 的指纹图谱，将其表征为物质单元，为简便、科学的指纹图谱分析方法。

表 3 50 批 LDCP (S1~S50) 划分与整合前后的指纹图谱进行总量统计矩参数

Table 3 Total statistical moment parameters of the fingerprints before and after the division and integration of 50 batches of LDCP (S1 – S50)

批号	状态	峰数	RSD/%	总量零阶矩/($\times 10^4 \mu V \cdot s$)	RSD/%	一阶矩/min	RSD/%	二阶矩/min ²	RSD/%
S1	前	141	85.17	4.335 2	0	17.79	0.12	63.64	3.99
	后	35		4.335 2		17.76		60.15	
S2	前	141	85.17	2.801 2	0	16.05	0.52	77.67	0.57
	后	35		2.801 2		15.94		77.05	
S3	前	142	85.49	3.315 3	0	17.04	0.72	76.97	1.47
	后	35		3.315 3		16.87		75.38	
S4	前	143	85.81	4.206 5	0	16.96	0.21	71.56	2.14
	后	35		4.206 5		16.91		69.43	
S5	前	144	86.12	4.385 9	0	16.88	0.10	70.02	2.03
	后	35		4.385 9		16.85		68.04	
S6	前	142	85.49	4.249 4	0	16.44	0.04	67.37	1.86
	后	35		4.249 4		16.45		65.62	
S7	前	144	86.12	2.991 9	0	17.29	0.68	80.17	1.60
	后	35		2.991 9		17.12		78.37	
S8	前	139	84.53	2.938 4	0	16.33	0.37	79.43	0.83
	后	35		2.938 4		16.25		78.50	
S9	前	141	85.17	3.096 4	0	17.30	0.50	78.54	1.27
	后	35		3.096 4		17.18		77.15	
S10	前	142	85.49	3.128 1	0	17.31	0.48	77.55	1.30
	后	35		3.128 1		17.19		76.14	
S11	前	138	84.20	2.862 8	0	16.11	0.19	74.40	0.60
	后	35		2.862 8		16.15		75.04	
S12	前	142	85.49	3.098 2	0	17.22	0.28	76.30	1.00
	后	35		3.098 2		17.15		75.23	
S13	前	144	86.12	3.238 1	0	17.01	0.64	78.91	1.29
	后	35		3.238 1		16.86		77.48	
S14	前	144	86.12	2.863 5	0	16.50	0.47	79.83	0.55
	后	35		2.863 5		16.39		79.22	
S15	前	140	84.85	3.051 3	0	17.28	0.69	77.02	0.90
	后	35		3.051 3		17.12		76.04	
S16	前	141	85.17	3.349 5	0	17.13	0.68	79.98	0.96
	后	35		3.349 5		16.97		78.90	

表 3 (续)

批号	状态	峰数	RSD/%	总量零阶矩/($\times 10^4 \mu\text{V}\cdot\text{s}$)	RSD/%	一阶矩/min	RSD/%	二阶矩/ min^2	RSD/%
S17	前	139	84.53	3.258 1	0	16.98	0.57	79.10	0.86
	后	35		3.258 1		16.84		78.14	
S18	前	141	85.17	3.110 6	0	16.70	0.53	77.48	0.70
	后	35		3.110 6		16.58		76.71	
S19	前	142	85.49	3.218 8	0	17.44	0.61	74.63	1.19
	后	35		3.218 8		17.29		73.39	
S20	前	140	84.85	3.128 1	0	17.71	0.69	75.43	1.25
	后	35		3.128 1		17.54		74.11	
S21	前	140	84.85	3.174 4	0	17.54	0.65	76.14	1.25
	后	35		3.174 4		17.38		74.80	
S22	前	144	86.12	3.058 7	0	17.37	0.58	77.33	0.84
	后	35		3.058 7		17.23		76.42	
S23	前	142	85.49	3.198 3	0	17.01	0.66	80.62	1.46
	后	35		3.198 3		16.85		78.96	
S24	前	135	83.19	2.652 1	0	15.62	0.20	81.18	0.07
	后	35		2.652 1		15.57		81.26	
S25	前	142	85.49	2.827 6	0	15.93	0.03	71.33	0.56
	后	35		2.827 6		15.94		70.76	
S26	前	141	85.17	3.197 9	0	16.92	0.60	80.95	1.11
	后	35		3.197 9		16.78		79.69	
S27	前	135	83.19	3.140 5	0	16.90	0.47	79.45	0.77
	后	35		3.140 5		16.78		78.59	
S28	前	138	84.20	2.945 7	0	16.06	0.13	78.80	0.10
	后	35		2.945 7		16.03		78.92	
S29	前	137	83.87	2.834 5	0	16.08	0.23	79.26	0.03
	后	35		2.834 5		16.03		79.30	
S30	前	138	84.20	3.022 8	0	15.94	0.17	77.70	0.11
	后	35		3.022 8		15.90		77.82	
S31	前	136	83.53	3.353 4	0	17.05	0.53	80.48	1.28
	后	35		3.353 4		16.93		79.04	
S32	前	135	83.19	3.158 8	0	17.11	0.62	78.32	1.45
	后	35		3.158 8		16.96		76.72	
S33	前	140	84.85	3.930 2	0	17.73	0.01	63.10	1.43
	后	35		3.930 2		17.74		61.83	
S34	前	140	84.85	3.445 5	0	16.97	0.39	79.01	0.79
	后	35		3.445 5		16.88		78.13	
S35	前	139	84.53	4.390 0	0	16.90	0.05	70.91	1.63
	后	35		4.390 0		16.92		69.29	
S36	前	136	83.53	3.880 8	0	16.32	0.19	70.92	0.90
	后	35		3.880 8		16.37		70.02	
S37	前	138	84.20	4.225 9	0	16.60	0.03	70.60	1.49
	后	35		4.225 9		16.60		69.12	

表 3 (续)

批号	状态	峰数	RSD/%	总量零阶矩/($\times 10^4 \mu\text{V}\cdot\text{s}$)	RSD/%	一阶矩/min	RSD/%	二阶矩/min ²	RSD/%
S38	前	139	84.53	2.754 8	0	16.11	0.10	79.80	0.55
	后	35		2.754 8		16.13		80.43	
S39	前	140	84.85	3.033 7	0	17.14	0.41	80.16	0.71
	后	35		3.033 7		17.04		79.36	
S40	前	135	83.19	3.956 3	0	16.54	0.07	72.49	1.35
	后	35		3.956 3		16.56		71.12	
S41	前	136	83.53	4.566 0	0	16.44	0.17	69.85	1.31
	后	35		4.566 0		16.48		68.57	
S42	前	138	84.20	3.242 5	0	17.10	0.36	80.60	0.89
	后	35		3.242 5		17.01		79.59	
S43	前	136	83.53	4.261 6	0	16.72	0.04	71.03	1.78
	后	35		4.261 6		16.71		69.26	
S44	前	135	83.19	2.986 7	0	16.22	0.16	79.71	0.12
	后	35		2.986 7		16.18		79.57	
S45	前	135	83.19	3.508 5	0	15.73	0.25	69.99	0.28
	后	35		3.508 5		15.78		69.71	
S46	前	132	82.14	4.508 4	0	16.84	0.11	70.74	2.21
	后	35		4.508 4		16.81		68.55	
S47	前	132	82.14	3.566 3	0	15.52	0.38	70.93	0.11
	后	35		3.566 3		15.60		71.04	
S48	前	132	82.14	3.466 4	0	15.26	0.51	70.10	0.27
	后	35		3.466 4		15.37		70.37	
S49	前	136	83.53	3.360 1	0	15.52	0.46	71.69	0.11
	后	35		3.360 1		15.62		71.80	
S50	前	136	83.53	4.001 1	0	16.82	0.04	74.00	1.65
	后	35		4.001 1		16.83		72.29	

3.9 谱量学方程的建立及实验验证

3.9.1 谱量学方程 根据朗伯-比尔定律, 色谱峰面积与其成分浓度呈线性关系, 整合后的各物质单元色谱总峰面积与物质单元内成分总浓度也呈线性关系, 呈现线性的叠加性。故将出膏率 (P_T) 作为因变量, 将 35 个物质单元 ($A_1 \sim A_{35}$) 总峰面积作为自变量, 用 SPSS 软件进行多元线性回归, 方程如下: $P_T = 23.390 + 0.041\ 06\ A_1 - 9.100 \times 10^{-3}\ A_2 + 0.014\ 68\ A_3 + 0.027\ 98\ A_4 - 0.033\ 61\ A_5 - 0.042\ 25\ A_6 - 6.608 \times 10^{-3}\ A_7 - 0.025\ 90\ A_8 - 0.145\ 60\ A_9 + 0.165\ 00\ A_{10} - 0.027\ 50\ A_{11} + 3.408 \times 10^{-3}\ A_{12} - 0.021\ 03\ A_{13} - 1.070 \times 10^{-3}\ A_{14} + 2.833 \times 10^{-5}\ A_{15} - 8.774 \times 10^{-3}\ A_{16} + 0.018\ 52\ A_{17} - 1.882\ 9 \times 10^{-3}\ A_{18} + 0.023\ 61\ A_{19} + 8.566 \times 10^{-3}\ A_{20} + 0.013\ 94\ A_{21} - 5.894 \times 10^{-3}\ A_{22} - 0.012\ 27\ A_{23} - 0.014\ 91\ A_{24} +$

$1.792 \times 10^{-3}\ A_{25} - 1.571 \times 10^{-4}\ A_{26} - 3.942 \times 10^{-3}\ A_{27} - 0.054\ 80\ A_{28} + 0.083\ 15\ A_{29} + 0.119\ 30\ A_{30} - 0.060\ 71\ A_{31} - 0.083\ 42\ A_{32} + 0.014\ 96\ A_{33} - 2.989 \times 10^{-3}\ A_{34} + 0.063\ 17\ A_{35}$ ($r=0.915$)。各物质单元总峰面积与回归系数乘积的绝对值为作用量, 通过计算得到 35 个物质单元 ($A_1 \sim A_{35}$) 与常数项的贡献率, 其结果按照作用量进行排序, 结果见表 4。

在表 4 中, 作用量可表示该物质单元对浸出物体系印迹量的占比, 作用量越大, 贡献率越大, 代表该物质单元内的化学成分的种类或含量越大。本研究中, 作用量最大值和最小值分别为物质单元 A_{10} 和 A_{15} , 表明物质单元 A_{10} 内的化学成分出现的频率最高, 其种类最丰富, 而物质单元 A_{15} 与之相反。回归系数的正负代表物质单元对浸出物的促进或抑制作用, 正值代表促进浸出物溶出, 负值代表

表 4 35 个物质单元的作用量、贡献率、累积贡献率、回归系数排序

Table 4 Order of action, contribution rate, cumulative contribution rate and regression coefficient of 35 material units									
物质单元	作用量	贡献率/%	累积贡献率/%	作用系数	物质单元	作用量	贡献率/%	累积贡献率/%	作用系数
A ₁₀	6.552 00	15.300 00	15.300 00	0.165 00	A ₂₈	1.202 00	1.579 00	72.758 00	-0.054 79
A ₂₁	5.682 00	2.352 00	17.652 00	0.013 94	A ₁₃	0.940 00	0.887 40	73.645 40	-0.021 05
A ₉	5.522 00	8.328 00	25.980 00	-0.145 60	A ₃	0.881 00	1.806 00	75.451 40	0.014 68
A ₁₇	5.464 00	3.302 00	29.282 00	0.018 52	A ₄	0.866 00	0.638 90	76.090 30	0.027 98
A ₁₆	4.229 00	1.770 00	31.052 00	-8.774×10 ⁻³	A ₈	0.828 00	1.631 00	77.721 30	-0.025 90
A ₂₅	3.176 00	8.974 00	40.026 00	1.792×10 ⁻³	A ₁	0.786 00	2.096 00	79.817 30	0.041 06
A ₂₄	2.907 00	3.122 00	43.148 00	-0.014 91	A ₃₁	0.630 00	1.336 00	81.153 30	-0.060 71
A ₂₂	2.390 00	0.674 00	43.822 00	-5.894×10 ⁻³	A ₅	0.538 00	1.070 00	82.223 30	-0.033 61
A ₃₀	2.138 00	2.134 00	45.956 00	0.119 30	A ₃₄	0.385 00	2.814 00	85.037 30	-2.989×10 ⁻³
A ₂₇	2.124 00	2.832 00	48.788 00	-3.942×10 ⁻³	A ₂₆	0.338 00	0.958 10	85.995 40	-1.571×10 ⁻⁴
A ₆	1.924 00	3.418 00	52.206 00	-0.042 25	A ₃₂	0.254 00	0.177 30	86.172 70	-0.083 47
A ₁₁	1.759 00	3.088 00	55.294 00	-0.027 50	A ₃₅	0.237 00	0.958 40	87.131 10	0.063 17
A ₁₈	1.649 00	2.005 00	57.299 00	-1.883×10 ⁻³	A ₁₂	0.159 00	0.156 90	87.288 00	3.408×10 ⁻³
A ₁₉	1.618 00	1.482 00	58.781 00	0.023 61	A ₇	0.158 00	0.360 10	87.648 10	-6.608×10 ⁻³
A ₂₉	1.617 00	1.721 00	60.502 00	0.083 15	A ₃₃	0.125 00	0.547 20	88.195 30	0.014 96
A ₂₃	1.610 00	2.320 00	62.822 00	-0.012 27	A ₁₄	0.077 00	0.084 96	88.280 26	-1.070×10 ⁻³
A ₂₀	1.333 00	2.248 00	65.070 00	8.566×10 ⁻³	A ₁₅	0.017 65	0.035 13	88.315 39	2.833×10 ⁻⁵
A ₂	1.211 00	6.109 00	71.179 00	-9.100×10 ⁻³	B	21.950 00	11.690 00	100.005 39	23.390

抑制浸出物溶出。

在本研究中,物质单元 A₁、A₃、A₄、A₁₀、A₁₂、A₁₅、A₁₇、A₁₉、A₂₀、A₂₁、A₂₅、A₂₉、A₃₀、A₃₃、A₃₅ 促进浸出物溶出;而物质单元 A₂、A₅、A₆、A₇、A₈、A₉、A₁₃、A₁₄、A₁₆、A₁₈、A₂₂、A₂₃、A₂₄、A₂₆、A₂₇、A₂₈、A₃₁、A₃₂、A₃₄ 抑制浸出物溶出,两者相互作用,达到平衡时的出膏率为 21.95%,RSD 为 8.51%,符合中药制剂质量允许变化 10%范围的要求。B 为仪器测定时总物质单元响应常数,是回归方程中不受自变量所影响,长期稳定存在的非随机部分。

3.9.2 实验验证 另取 LDCP 样品 ($n=3$,批号 202110011、202111009、20211169),按“2.3.1”项下处理得供试品溶液,进样后获得指纹图谱,并对其指纹图谱进行物质单元的划分,所得各物质单元总峰面积带入谱量学方程,计算 P_T 分别为 23.79%、20.79%、25.01%,其均值为 23.20%。

通过分析均值与谱量学常数项 B 的 RSD 值,结果显示 RSD 为 1.15%,说明常数项 B 与出膏率均值较为接近,能较好的预测 LDCP 的平均出膏趋势。通常均值在加减偏差 3 倍(70%~130%)左右为出膏率的允许范围,根据常数项 B 值计算出的出膏率变化范围为 16.37%~30.41%,故其 LDCP 的出

膏率应在该范围内波动,超出范围的则不符合 LDCP 的质量控制要求。

4 讨论

本课题组前期已经建立了匹配频数统计矩法,并对大黄和百合进行了谱量学研究,得出了一套将超分子“印迹模板”物质单元与浸出物含量相关联的质量控制研究方法,本研究将该方法应用于预测 LDCP 的出膏率和平均出膏率研究中,并对所得的物质单元进行作用量排序,有望对 LDCP 的质量控制与评价提供新思路与新方法。

基于超分子“印迹模板”理论,通过匹配频数统计矩法将 50 批 LDCP 指纹图谱进行划分与整合,最终得到 35 个物质单元,每个物质单元中的化学成分生物理化性质类似。运用统计学软件,将 35 个物质单元总峰面积与出膏率进行线性回归,得到谱量学方程与每个物质单元的回归系数。回归系数与相应的峰面积相乘得到作用量,可确定各物质单元对浸出物体系的印迹量占比与该物质单元内的化学成分的种类范围与含量高低。本研究中物质单元 A₁₀的作用量最大,说明该物质单元对出膏率的贡献率最高,越需要进行控制;物质单元 A₁₅的作用量最小,代表该物质单元对出膏率的贡献率最小,对

LDCP 的整体质量影响不大。此外, 谱量学方程中的常数项 B, 能较好地预测出膏率的平均出膏趋势, 并根据常数项确定了出膏率的变化范围, 依此可实现对 LDCP 的质量控制与评价。

中药及其制剂具有整体性, 依靠单一成分或同时以几个成分作为质量控制的指标成分的方法, 不能全面客观地评价中药的质量, 更不能保证药效, 故从整体上实现对中药的质量控制与评价一直是当下的难点^[20-22]。而基于超分子“印迹模板”理论, 可弄清色谱柱与中药成分群的作用机制, 根据匹配频数统计学原理从整体上把握成分群动态变化规律, 在中药质量控制中具有重要作用, 是破解目前中药质控碎片化, 突破“找成分、测含量、订下限”模式的重要指导, 突破单纯的“唯成分论”, 是实现中药现代化的思路之一。

综上, 本研究基于匹配频数统计矩法对 LDCP 进行了谱量质量控制研究, 通过计算得到各物质单元的作用量排序, 并预测了 LDCP 的出膏率与平均出膏率, 确定了出膏率的变化范围。后续研究需要进一步对作用量较大的物质单元进行深入分析, 并进行体内实验验证。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 周滢, 苏咏梅, 周萍. 从中药复方角度研究中药炮制的思路探讨-以“六味地黄丸”为例 [J]. 时珍国医国药, 2014, 25(3): 687-688.
- [2] 耿丽, 蔡云芳. 六味地黄丸 HPLC 指纹图谱建立及主要成分分析 [J]. 世界中医药, 2019, 14(11): 2875-2878.
- [3] 刘会中, 孙思怡, 李党召, 等. 六味地黄丸联合恩格列净治疗 2 型糖尿病的临床研究 [J]. 现代药物与临床, 2023, 38(12): 3091-3096.
- [4] 岳晨, 肖学风, 秦文杰. 六味地黄丸治疗围绝经期综合征的临床研究进展 [J]. 药物评价研究, 2022, 45(4): 804-809.
- [5] 易子漾, 陈林, 郝婧, 等. 六味地黄丸指纹图谱和抗氧化活性的“谱-效”关系研究 [J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(7): 4096-4101.
- [6] 杨华杰, 魏惠珍, 吕尚, 等. 基于化学模式识别和网络药理学的六味地黄丸中标志物的预测 [J]. 中药新药与临床药理, 2021, 32(9): 1345-1352.
- [7] Fu H Y, Huan S Y, Xu L, et al. Construction of an efficacious model for a nondestructive identification of traditional Chinese medicines Liuwei Dihuang Pills from different manufacturers using near-infrared spectroscopy and moving window partial least-squares discriminant analysis [J]. *Anal Sci*, 2009, 25(9): 1143-1148.
- [8] 石伟, 李家春, 刘汉清, 等. 基于多成分定量测定的六味地黄浓缩丸质量分析 [J]. 中草药, 2015, 46(7): 1002-1006.
- [9] 石伟, 倪付勇, 李云, 等. 基于多成分含量测定的六味地黄浓缩丸溶出度考察 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2016, 18(3): 537-542.
- [10] 聂志姣, 贺福元, 罗杰英, 等. 大黄特征成分簇谱量学的初步研究 [J]. 中药材, 2009, 32(4): 530-535.
- [11] 陈定芳, 李文姣, 田丽, 等. 基于超分子“印迹模板”整合成分簇的龙牙百合谱量学研究 [J]. 湖南中医药大学学报, 2022, 42(8): 1247-1254.
- [12] 张为亮. 浅谈中药提取的出膏率控制 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(7): 849-850.
- [13] 周燕子, 陈锋, 王敏存, 等. 基于超分子“印迹模板”的鱼腥草注射剂致敏原研究 [J]. 中草药, 2022, 53(1): 154-161.
- [14] 贺福元, 贺红, 邓凯文, 等. 借超分子“印迹模板”的自主作用解开金(山)银花纷争 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(6): 1152-1160.
- [15] 吴月峰, 陈定芳, 朱志飞, 等. “同源异效”中药用药现象及超分子作用机制的研究 [J]. 中草药, 2021, 52(18): 5729-5740.
- [16] 李文姣, 肖美凤, 李海英, 等. 中药超分子“印迹模板”作用对成分簇动态性与稳态性变化规律的理论研究 [J]. 中草药, 2023, 54(8): 2659-2667.
- [17] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 743.
- [18] 陈燕芬, 陈丽娟, 谢文健. 出膏率在控制膏方煎煮方面的正交研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(11): 11-12.
- [19] 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]. 药科学报, 2008, 43(2): 195-201.
- [20] 余燕达, 鞠宝兆, 徐兴稳. 从李时珍学术思想论中医药整体性 [J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(7): 2883-2885.
- [21] 姜华, 高原, 杨景明, 等. 源于“整体观”思想的中药质量评价方法研究概述 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(6): 1027-1031.
- [22] 李海英, 贺琪琚, 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.

[责任编辑 郑礼胜]