

文章编号: 1006-2858(2008)02-0126-07

# 中药色谱指纹图谱辅助分析系统的设计与应用

董鸿晔, 王海慧, 金 杰, 赵 青

(沈阳药科大学 基础学院, 辽宁 沈阳 110016)

**摘要:** 目的 研究计算机辅助分析、评价中药指纹图谱的方法及应用。方法 以 Microsoft Visual Studio. Net 2003 作为开发平台, 利用面向对象技术和相关统计算法。结果 设计并开发了基于 Windows 界面的中药指纹图谱辅助分析系统; 中药指纹图谱辅助分析系统作为对实际系统应用的测试与检验, 对精制大蒜油指纹图谱进行了辅助分析计算, 达到了预期数据处理要求; 系统测试表明, 该系统在 CPU 主频为 1 G、内存为 256 M 的计算机上能够同时处理 100 张实验时间为 60 min 的色谱指纹图谱。结论 经过不断的改进和完善, 该系统已经囊括了国内多数优秀中药指纹图谱软件技术和算法, 不但能够完成对照指纹图谱的生成、相似度计算等基本功能, 而且还能够进行谱图编辑与优化、自由谱峰匹配、图表排版、简单数据挖掘等功能; 该系统具有实用性与稳定性。

**关键词:** 中药; 指纹图谱; 计算机; 辅助分析系统

**中图分类号:** R 917 **文献标志码:** A

中药指纹图谱是当前国际公认的最有效的全面反映天然药物质量的最可靠控制技术<sup>[1]</sup>, 随着仪器设备自动化水平的提高, 我国对中药注射剂已开展了全国性的攻关研究<sup>[2]</sup>, 大量的中药指纹图谱相继涌现。然而如何尽快找到合适的评价分析方法, 以便建立科学的评价体系, 解释和评价中药中蕴含的药效成分信息, 通过指纹图谱来控制中药材质量, 成为亟待解决的问题<sup>[3]</sup>。

为了推广和促进中药质量控制现代化, 经过多年的摸索和实践, 本课题组开发设计了中药色谱指纹图谱辅助分析系统, 旨在对中药指纹图谱进行科学的研究与评价, 指导众多药学科研工作者快速、合理地建立中药指纹图谱, 更好地开展中药指纹图谱理论与实践研究, 为建立新的指纹图谱的实验方法、解析与综合评价图谱提供理论依据。

## 1 系统概述

中药色谱指纹图谱辅助分析系统基于 Microsoft Visual Studio. Net 2003 开发平台, 利用 VB. Net 和 C#. Net 程序设计语言和面向对象技术设计而成, 其后台数据库为 SQL SERVER 2000。该系统可以在不使用 Windows 注册表项

或依赖项的情况下安装, 只要将该系统应用程序复制到用户计算机中即可直接运行。系统采用客户端-服务器 (C-S) 和客户端浏览器-应用程序服务器-数据服务器 (B-A-S) 模式, 由检验版和研究版组成。研究版的功能是管理与辅助分析用户中药指纹图谱数据, 制定标准中药指纹图谱, 生成对照指纹图谱; 检验版主要面向企业, 其功能是依据已经制定好的标准中药指纹图谱对待测指纹图谱进行检验, 并给出检验报告。

### 1.1 系统工作流程

中药色谱指纹图谱辅助分析系统的两大核心内容为对照色谱指纹图谱的生成和待测色谱指纹图谱的检验, 其工作流程如图 1、2 所示。

### 1.2 系统结构设计

本系统的逻辑结构采用多文档结构, 包括研究文档、检验文档、研究报告、检验报告、谱图文档、对照指纹图谱文档等。其中研究报告和检验报告分别由研究文档和检验文档生成。谱图文档作为一个单独的文档供用户浏览编辑和“库存”谱图。对照指纹图谱文档由研究文档生成, 并作为研究文档和检验文档之间连接的桥梁。

收稿日期: 2007-03-15

基金项目: 国家自然科学基金重大研究计划项目 (90612002); 辽宁省教育厅高等学校科学研究项目 (05L426)

作者简介: 董鸿晔 (1954-), 男 (汉族), 辽宁沈阳人, 教授, 主要从事计算机在药学中的应用研究, Tel. 024-23986531, E-mail donghy001@126.com。

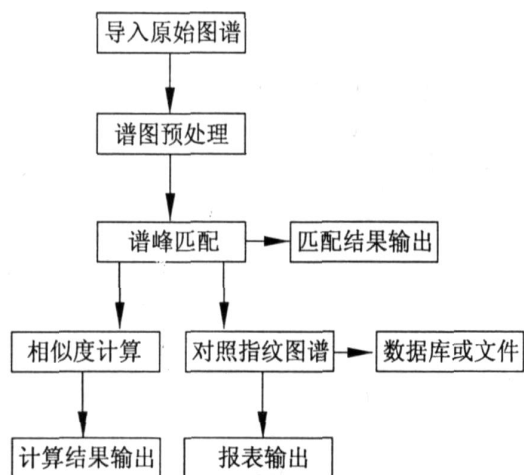


图1 对照指纹图谱生成流程图

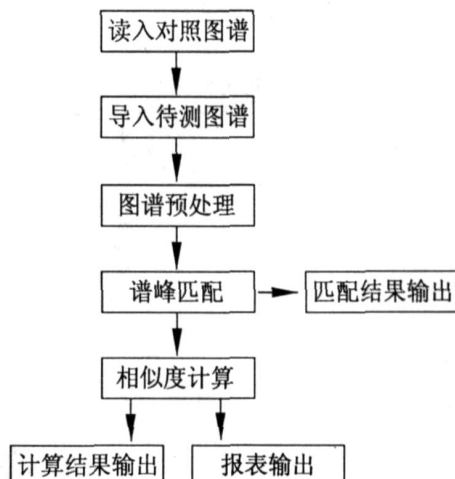


图2 待测指纹图谱检验流程图

本系统的物理结构采用面向对象技术,通过自定义的10个类来实现系统全部功能。

(1) ResearchDoc 类是系统的核心,其主要任务是建立、保存和打开文档;导入导出谱图数据;辅助用户分析和处理谱图数据;根据谱图数据生成研究报告及对照指纹图谱文档。

(2) ResearchFrm 类的任务是为用户提供研究文档的图形界面和操作接口并响应和处理相应的用户事件,该类从 DotNetFramework 类库中的 WinForm 继承而来。

(3) CheckDoc 类的任务是建立、保存和打开一个检验文档;导入导出谱图数据;辅助用户依据对照指纹图检验待测谱图数据;生成检验报告。

(4) CheckFrm 类是为用户提供检验文档的图形界面和操作接口并响应和处理相应的用户事件,该类从 DotNetFramework 类库中的 WinForm 继承而来。

(5) ReportDoc 类的任务是建立、保存、打开和打印一个报告文档,该报告文档可以是研究报告也可以是检验报告;辅助用户对报告样式进行适当的编辑。

(6) ReportFrm 类的任务是为用户提供报告文档的图形界面和操作接口并响应和处理相应的用户事件,该类从 DotNetFramework 类库中的 WinForm 继承而来。

(7) ReferenceChromDoc 类的任务是建立、保存、打开一个对照色谱指纹图谱文档;辅助用户查看对照色谱指纹图谱信息;加密对照色谱指纹图谱。

(8) ReferenceChromFrm 类是为用户提供对照色谱指纹图谱文档的图形界面和操作接口并响应和处理相应的用户事件,该类从 DotNetFrame-

work 类库中的 WinForm 继承而来。

(9) ChromatogramDoc 类的任务是建立、保存和打开一个谱图文档;导入导出谱图数据;辅助用户对谱图进行相应的编辑处理;辅助用户将谱图数据保存到本地或是网络数据库中。

(10) ChromatogramFrm 类是为用户提供谱图文档的图形界面和操作接口并响应和处理相应的用户事件,该类从 DotNetFramework 类库中的 WinForm 继承而来。

### 1.3 系统工作界面

中药色谱指纹图谱辅助分析系统由文件、图表、谱图、色谱峰、坐标轴、轴文本、轴标尺、图例、注释等9项选单120余项功能组成。其中研究版主界面如图3所示,核心模块谱图选单如图4所示。

## 2 系统关键技术

### 2.1 中药色谱指纹图谱辅助分析系统的算法研究

中药色谱指纹图谱辅助分析系统的算法研究属于模式识别的范畴。目前中药色谱指纹图谱的计算机识别与解析算法的基本理论依据是模糊数学与人工神经网络等<sup>[4]</sup>。2002年,国家药典委规定中药色谱指纹图谱评价系统以相似度为主要参考指标,计算方法采用夹角余弦法。对于对照色谱指纹图谱的算法,采用平均矢量法和中位数矢量法两种算法。

夹角余弦算法的优点之一是强调定性而非定量。正是由于这个特性,该算法可以避免因色谱工作站不同造成原始数据单位不同对计算结果的影响。在某种程度上也可以克服在标准制定与检验过程中由于不同时间、不同实验室、不同仪器所造成的系统误差。夹角余弦算法的缺欠是定性不定量,峰

面积大的色谱峰对相似度计算结果影响较大。

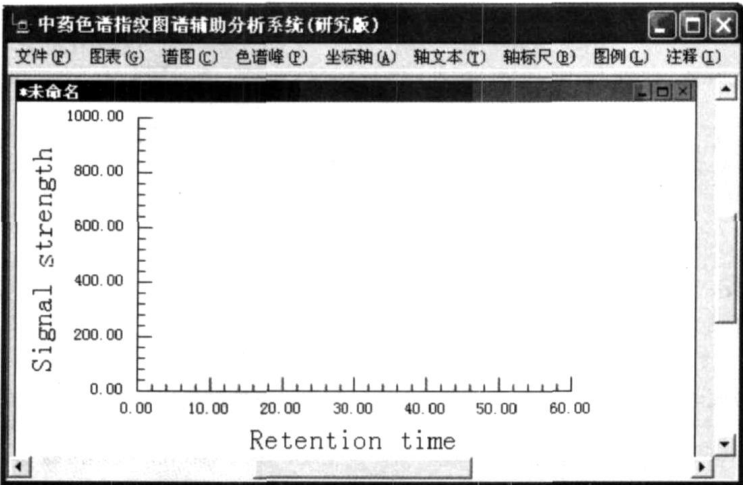


图 3 中药色谱指纹图谱辅助分析系统研究版主界面

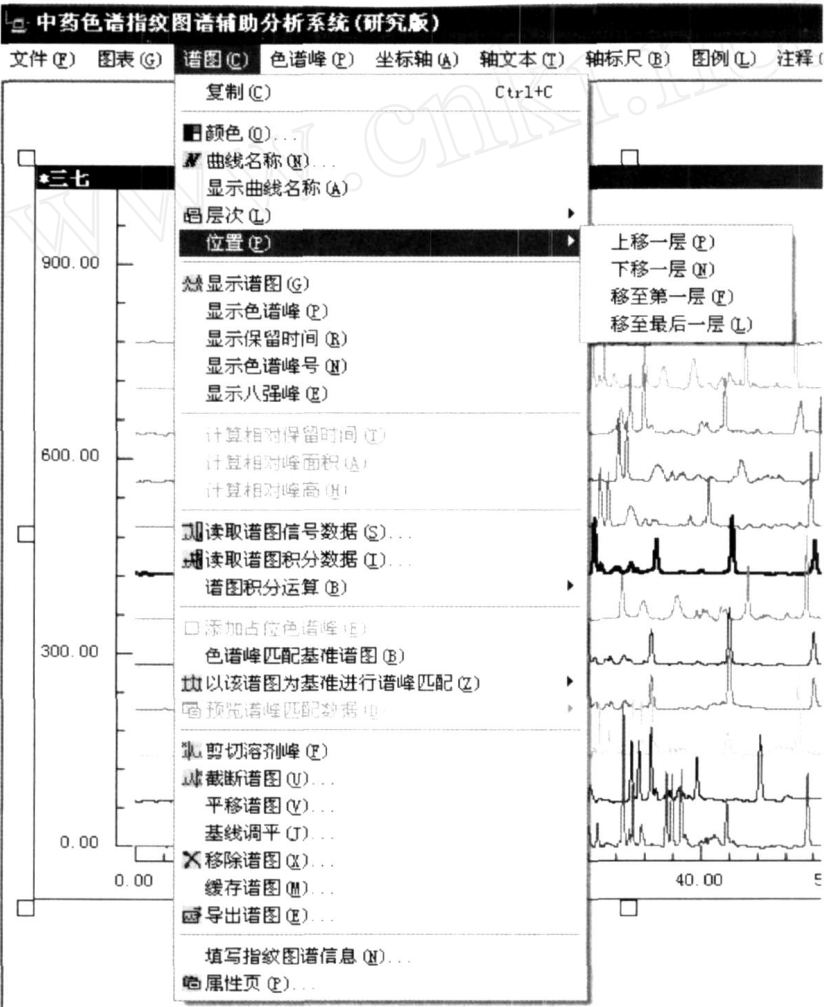


图 4 中药色谱指纹图谱辅助分析系统谱图选单

2.2 谱图数据导入技术

谱图数据的导入是指将色谱工作者通过各种色谱工作站获得的色谱指纹图谱数据导入到色谱指纹图谱辅助分析系统中进行数据分析与处理。由于色谱工作站种类繁多,各色谱工作站对于谱图数据文件导出格式并不统一,给本系统的谱图数据导入带来较大麻烦。为解决这个问题,该系统设计了 5 个谱图数据导入方式,分别为“文件”“缓存”“数据库”“计算拟合谱图”和“图像识别”。

2.3 参比色谱峰的设定与相对计算

指纹图谱的参照物质按来源可以分两类:一类来源于测试样品本身,另一类则是外加的内标物。在选择外加内标物作为参照物时,应当考虑到其对中药指纹图谱相似度计算所带来的麻烦。如果参照物是外加的内标物,由于外加参照物并非色谱指纹图谱成分,因此必须在相似度计算的时候将这个色谱峰排除在外。如果将外加内标物的参比峰视为指纹图谱的一部分进行计算,则参比峰的峰面积都大于总峰面积的 5%,那么由大峰对计算结果起决定性作用的讨论可知,这种错误的计算将会对计算结果造成很大的影响。

2.4 谱峰匹配

谱峰匹配是指将若干张色谱指纹图谱中代表同一化学成分的色谱峰归为一组色谱峰的操作。由于多数色谱指纹图谱峰并不知道其所代表的化学成分,因此进行谱峰匹配的依据只能是色谱峰的保留时间,即把不同谱图上保留时间相近的色谱峰看作是一组色谱峰。这种方式的优点是算法简单,易于接受;缺点是对于复杂的数据,往往需要过多的人为干预。

2.5 对照色谱指纹图谱的生成

对照色谱指纹谱图实际上是一张含有共有色谱峰数据的由计算机根据一组色谱指纹图谱拟合而成的色谱指纹图谱。作为拟合图谱,必须反映出原始图谱的共有特性,要求从数据和外形两个方面来体现。数据即指共有色谱峰数据,外形指的是色谱峰的峰形,即色谱峰的高矮、拖尾、前延等。本系统采用按色谱峰组分段拟合的方式来实现。

3 系统应用

3.1 数据来源及要求

作为对实际系统应用的测试与检验,采用沈阳某医院药剂科提供、由安捷伦气相色谱工作站获得的 10 批精制大蒜油实验数据,批号 S01 ~

S10。

- (1) 获得指纹图谱原图;
- (2) 获得指纹图谱预处理结果图;
- (3) 获得指纹图谱匹配结果图;
- (4) 获得指纹图谱匹配数据;
- (5) 获得按平均值法计算得到的对照指纹图谱;
- (6) 获得指纹图谱相似度计算数据。

3.2 数据处理

利用本系统研究版处理得到指纹图谱原图见图 5。针对该组指纹图谱数据进行参比色谱峰设定,通过相对运算对谱图进行校正后的处理结果见图 6,其中圆点代表色谱峰,菱形代表内参比色谱峰,该图使用相对保留时间。对该组指纹图谱数据进行谱峰匹配后的结果见图 7,其中纵向的虚线所连接的各色谱峰构成一个色谱峰组,由系统自动识别和划分。系统依据该对照指纹图谱检测原始的 10 批输入数据得到的相似度分析结果见表 1。根据谱峰匹配的结果系统自动生成的 10 批精制大蒜油指纹图谱的对照指纹图谱见图 8。

表 1 相似度评价结果

样品	相似度
S01	0.999 630
S02	0.990 321
S03	0.998 574
S04	0.994 807
S05	0.996 957
S06	0.998 472
S07	0.989 739
S08	0.993 191
S09	0.977 747
S10	0.990 656

4 结论

中药指纹图谱是使用多学科交叉、综合的技术手段对复杂物质组成体系质量稳定性进行评价的检测方法。随着各种相关理论的不断成熟、各种技术的不断实践与应用,中药指纹图谱已经成为中药质量控制最为主要的手段之一。同时,人们也逐渐注意到计算机信息处理技术在中药指纹图谱研究中的重要性<sup>[5]</sup>。

经过不断的改进和完善,本系统已经囊括了国内多数优秀中药指纹图谱软件技术和算法,不但能够完成对照指纹图谱的生成、相似度计算等基本功能,而且还能够进行图谱编辑与优化、自由

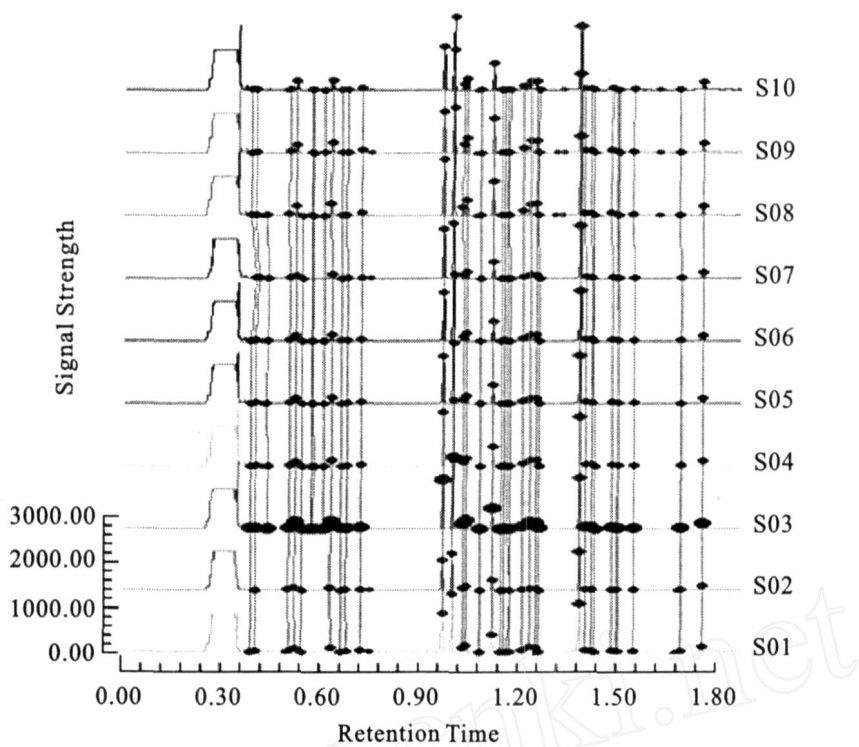


图 5 指纹图谱原图

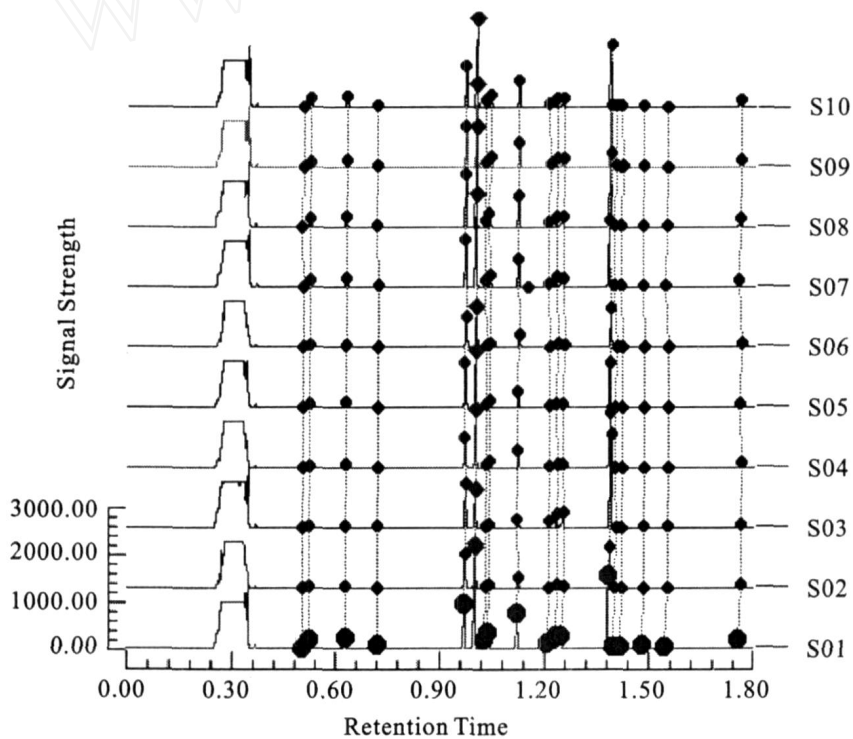


图 6 指纹图谱预处理结果

谱峰匹配、图表排版、简单数据挖掘。此外,系统还支持、互联网络服务、二进制加密等高级功能以及与其他软件进行交互的数据接口。

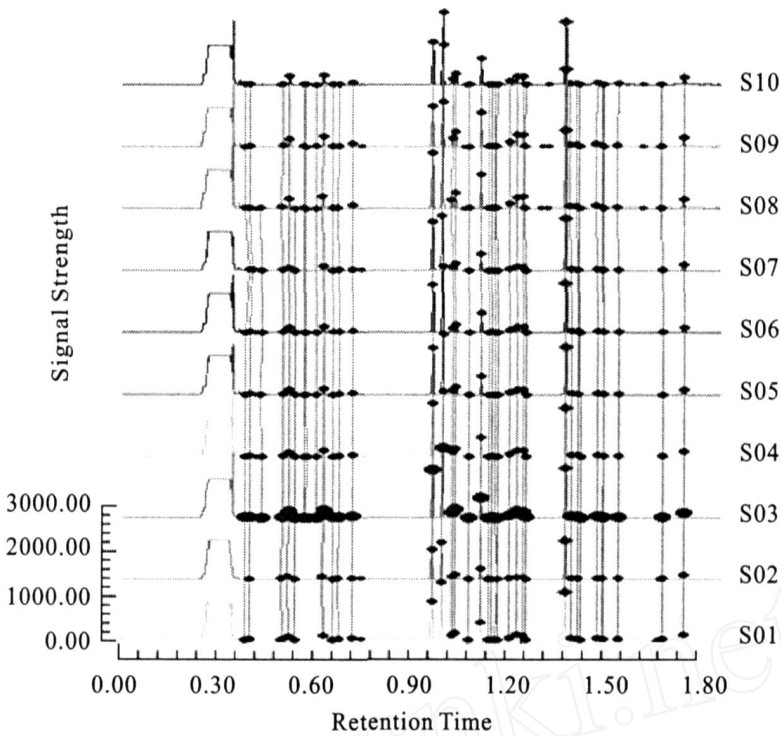


图 7 指纹图谱谱峰匹配结果

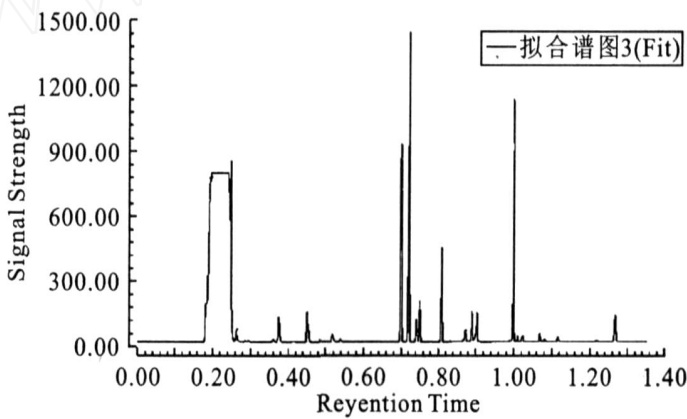


图 8 10 批精制大蒜油指纹图谱的对照指纹图谱

系统开发完成以来,共处理了丹参、当归、斑蝥、苦参碱、苦碟子、鸦胆子、三七、人参、薏苡仁、大蒜油、精制大蒜油、莪术油、白皮蒜、独头蒜、寄生等中药材的原料药、中间体及制剂的指纹图谱数据。系统的测试表明,该系统在 CPU 主频为 1 G、内存为 256 M 的计算机上能够同时处理 100 张实验时间为 60 min 的色谱指纹图谱,证明本系统具有实用性与稳定性。

参考文献:

[1] 韩凤梅,蔡敏,陈勇. 中药指纹图谱技术研究现状[J].

分析科学学报,2004,20(6):647-651.

[2] 马虹,韦永勤,林佳任. 中药指纹图谱的研究及进展[J]. 贵阳中医学院学报,2004,26(2):62-63.

[3] 陈新民. 中药指纹图谱技术的发展现状及应用[J]. 中药研究与信息,2004,6(3):37-39.

[4] 蒋晔,郝晓花,刘红菊. 中药指纹图谱的构建与解析[J]. 中成药,2004,26(4):6-9.

[5] 王夏炎. 现代分析技术在中药指纹图谱研究中的应用[J]. 中草药,2004,35(7):127-130.

# Design and application of chromatographic fingerprint of traditional Chinese medicine aided analytical system

DONG Hong-ye , WANG Hai-hui , JIN Jie , ZHAO Qing

( School of Basic , Shenyang Pharmaceutical University , Shenyang 110016 , China )

**Abstract : Objective** To study the computer-aided analysis and evaluate the approaches as well as application of fingerprint of traditional Chinese medicine. **Methods** Taking Microsoft Visual Studio .Net 2003 as development platform ,object-oriented technique and relative statistic and algorithm were used for the design and application of the aided analytical system of fingerprint of traditional Chinese medicine. **Results** As the test and check of actual system applications ,aided-analysis and calculation about the fingerprint of refinement of garlic oil achieves the anticipated demand of data processing. System testing shows that in the computer with CPU main frequency being 1 G ,EMS memory being 256 M ,this system can simultaneously deal with 100 pieces of chromatographic fingerprint ,of which experiment time is 60 min. **Conclusions** With consistently improvement ,this system has included a large amount of excellent software technique on fingerprint of traditional Chinese medicine and algorithm ,which can not only accomplish such basic functions as creation of the contrasted fingerprint ,molecular similarity ,etc ,but can carry out spectrogram compiling and optimizing ,freedom chart peak matching ,charts typesetting ,simple data mining ,etc as well. It is proved the practicability and stability of this system

**Key words :** traditional Chinese medicine ;fingerprint ;computer ;aided analytical system

( 上接第 121 页 )

# Determination of contents of chlorogenic acid in *Senecio cannabifolius* Less. from different regions by HPLC

NAN Min-lun ,HE Yu-fang ,LIU Jing-yue ,ZHAO Quan-cheng

( Academy of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica of Jilin Province , Changchun 130021 , China )

**Abstract : Objective** To set up HPLC method for the determination of the contents of chlorogenic acid in *Senecio cannabifolius* Less. from different regions. **Methods** A Diamonsil C<sub>18</sub> column (4.6 mm ×250 mm , 5 μm) was used with the mobile phase consisting of acetonitril and 0.4 % phosphoric acid. The flow rate was 1 mL ·min<sup>-1</sup> and the detection wavelength was set at 326 nm. **Results** The liner range of chlorogenic acid was 62 - 301 ng. The average recovery of chlorogenic acid was 99.2 % (RSD = 0.91 % , n = 9) . Contents of chlorogenic acid were 0.95 ,0.72 ,0.55 ,0.64 ,0.44 mg ·g<sup>-1</sup> from five regions respectively. **Conclusions** The method is suitable for determination of chlorogenic acid in *Senecio cannabifolius* Less. There exist significant differences in the contents of chlorogenic acid in *Senecio cannabifolius* Less. from five regions. Among them ,the content of chlorogenic acid from Jilin Tonghua is the highest.

**Key words :** *Senecio cannabifolius* Less. ;chlorogenic acid ;HPLC