

大活络丸原子吸收指纹图谱和鉴别的研究 · 建立生产厂的厂标的无机元素指纹图谱的探讨

张奇凤¹, 朱隆尹², 丁树良³, 王晨¹, 涂龙飞¹

1. 南昌大学分析测试中心, 江西 南昌 330047

2. 赣南师范学院数学与计算机学院, 江西 赣州 341000

3. 江西师范大学计算机系, 江西 南昌 330027

摘要 目前中药绝大多数指纹图谱都是对中药有机成分, 进行研究和建立的指纹图谱, 建立无机元素指纹图谱的研究未见报道。文章通过对江西樟树制药厂生产的 27 批次的大活络丸用原子吸收光谱仪测定的 12 种无机元素及其建立指纹图谱的研究, 尝试用向量相似法和成分数据分析法对大活络丸和不同种类的中药进行鉴别。研究表明无机元素用这两种方法具有较强的预测能力, 完全可以达到区分和鉴别是否是大活络丸的效果; 并且证明中药无机元素质量控制标准的建立是可行的。文章通过无机元素指纹图谱建立和不同种类中药的鉴别, 为目前中药无机元素质量标准的建立提供了新思路、新方法。

关键词 原子吸收; 大活络丸指纹图谱; 向量相似法; 成分数据分析法

中图分类号: R282.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-0593(2008)03-0681-05

素质量标准是完全可以行的。

引言

中医中药越来越受到世界医药学界的重视。然而长期以来, 对中药成分的研究偏重于有机成分, 往往忽略了无机成分。近年来, 随着中药无机元素研究的不断深入, 人们认识到无机元素与中药的疗效密切相关。目前中药绝大多数指纹图谱都是对中药有机成分进行的研究^[1-3], 建立无机元素指纹图谱的研究未见报道。考虑到无机元素在中药疗效中的作用, 尝试用中药的无机元素来建立无机元素指纹图谱, 建立中药中无机元素质量标准, 以保证中药的药效。

多年来中药无机元素的研究发现, 无机元素由于产地、季节、气候等等因素的影响, 中药的原材料和成品中无机元素的含量波动很大, 给中药的药效和药性带来差异, 给中药质量控制带来很大的难度^[4, 5]。我们先尝试建立生产厂的标准, 采集江西樟树制药厂生产的大活络丸不同批次的 27 个样品, 用原子吸收光谱仪可以直接测定人体必需的 12 种无机元素, 建立生产厂无机元素指纹图谱, 并寻找鉴别不同种类中药的方法。研究表明用向量相似法和成分数据分析法鉴别区分不同种类的中药, 具有较强的鉴别能力。并通过向量相似法和成分数据分析法的研究可以确定, 建立中药无机元

1 实验部分

1.1 样品的采集

采集江西樟树制药厂生产的不同批次 27 批大活络丸, 样品由江西樟树制药厂检验科提供。香砂养胃丸(武汉市健民制药厂)、Vc 银翘片(江西德兴大茅山制药厂)均市售。

1.2 实验试剂

HNO₃(AR 级), HClO₄(AR 级); 12 种无机元素的标准溶液。

1.3 实验仪器

Z-8000 偏振塞曼原子吸收光谱仪(日本日立公司生产), 12 种无机元素的空心阴极灯。Cu, Ca, Fe, K, Mg, Sr, Mn, Zn, Na 的测定使用火焰原子吸收法, 测试条件见表 1; Ni, V, Cr 的测定使用石墨炉原子吸收法。测试条件见表 2(表 2 中列出 Ni, V, Cr)。软件: Matlab 软件包。

1.4 样品的处理

准确称取样品 1.000 0 g 左右。在各样品中分别加入硝酸 6 mL, 高氯酸 2 mL, 静置过夜; 样品在电炉加热处理, 直至清亮; 冷却, 定容 50 mL 容量瓶。

收稿日期: 2006-12-18, 修订日期: 2007-03-28

基金项目: 江西省科学技术委员会工业公关项目, 江西省自然科学基金重点项目(0040019)和江西科技厅工业科技重点项目(200120205700)

资助

作者简介: 张奇凤, 女, 1951 年生, 南昌大学分析测试中心教授 e-mail: zqf@ncu.edu.cn

1.5 样品测定结果

说明测定结果准确可靠。

样品测定结果见表 3。样品回收率在 90 % ~ 110 % 之间，

Table 1 Conditions of FAAS for determination

元素名称	波长/nm	光谱通/nm	灯电流/mA	乙炔压力/(kg·cm ⁻²)(L·min ⁻¹)	空气压力/(kg·cm ⁻²)(L·min ⁻¹)
Cu	324.8	1.3	7.5	0.3(2.3)	1.6(9.5)
Ca	422.7	0.4	7.5	0.3(2.3)	1.6(9.5)
Fe	248.3	0.2	10.0	0.3(2.3)	1.6(9.5)
K	766.5	1.3	10.0	0.3(2.3)	1.6(9.5)
Mg	285.2	0.2	10.0	0.35(2.5)	1.6(9.5)
Sr	460.7	1.3	1.0	0.25(2.0)	1.6(9.5)
Mn	279.6	0.4	7.5	0.3(2.3)	1.6(9.5)
Zn	213.8	1.3	10.0	0.2(2.0)	1.6(9.5)
Na	589.0	0.4	10.0	0.25(2.2)	1.6(9.5)

Table 2 Conditions of GFAAS for determination

元素名称	波长/nm	光谱通带/nm	灯电流/mA	干燥/(30 s)	灰化/(30 s)	原子化/(10 s)	除残/(3 s)
Ni	232.0	0.2	10.0	80 ~ 120	700	2 700	2 800
V	318.4	0.4	12.5	80 ~ 120	900	3 000	3 000
Cr	359.3	1.3	7.0	80 ~ 120	700	2 800	3 000

Table 3 Determination results of the samples($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)

编号	Na	Mg	K	Ca	V	Cr	Mn	Fe	Ni	Cu	Zn	Sr
1	2 573.5	1 024	2 795	5 848	2.63	6.61	34.8	826.475	1.54	6.46	20.86	1.1
2	2050.5	1218.5	3437	6861.5	2.23	5.17	32.54	814.015	2.3	7.73	23.49	1.04
3	2 440	1 219.5	2 994.5	7 419	2.645	5.24	35.43	559.215	2.9	6.7	23.62	0.945
4	2 685	1 199	3 069	7 235.5	3.15	6.43	38.01	789.15	2.98	8.92	22.95	1.03
5	1 506.5	1 204	2 845.5	7 012	3.115	6.83	36.78	532.495	2.53	6.29	24.95	0.965
6	1 580.5	1 117	2 888	6 614	0.92	4.86	30.95	1 024.4	4.64	7.05	23.92	0.935
7	2 485	1 205.5	3 099	6 892.5	1.355	5.98	34.39	473.09	4.22	7.16	23.11	1
8	1 757.5	1 105.5	3 418	6 512	1.355	3.91	33.6	515.135	4.66	6.66	25.04	1.055
9	2 226.5	1 145	3 417.5	6 976.5	1.4	8.17	31.97	430.945	4.77	7.73	24.02	0.955
10	1 754.5	1 028.5	3 319.5	6 453	1.205	6.71	32.41	516.87	5.66	8.18	27.73	1.03
11	1 036	1 153	2 994	6 788.5	1.765	2.27	32.99	629.225	1.77	9.43	24.17	0.99
12	1 652	1 079	3 128	6 746	1.74	1.37	29.25	543.43	3.47	7.14	24.23	0.96
13	1 406.5	907	2 738.5	6 952	1.185	0.95	30.62	350.445	3.46	6.03	31.4	1.05
14	1 395.5	907.5	2 662.5	5 920.5	1.855	2.26	28.01	407.11	9.47	7.34	25.48	1.115
15	1 381.5	1 090	3 171	7 239	1.575	2.29	30.13	496.28	5.39	7.6	25.67	0.835
16	2 841	1 129.5	3 591.5	7 189.5	1.635	2.54	35.32	544.89	6.52	8.92	29.22	0.855
17	2 550	1 075	3 027	6 134	1.73	2.03	31.1	486.835	3.62	7.57	22.42	0.795
18	1 422.5	1 060	3 080.5	6 701	1.72	3.77	37.59	542.765	4.53	8.78	26.34	1.005
19	2 468	998	3 176.5	6 745	1.19	5.74	30.2	471.39	6.85	7.34	18.84	0.94
20	2 525	991.5	3 202	6 497.5	1.315	4.38	31.19	484.85	4.79	7.57	19.31	1.025
21	1 382.5	1 036.5	2 981	6 417.5	1.095	4.44	32.4	355.71	6.31	6.49	24.76	0.985
22	1 183	1 045	3 131	6 374	0.955	2.61	33.98	558.535	2.91	8.57	23.76	1.04
23	1 217.5	1 086	3 220	6 895	1.295	2.42	32.96	552.575	3.06	13.37	25.91	0.925
24	1 826	818.5	2 529	5 501.5	0.465	3.11	24.01	518.98	9.17	7.82	20.09	0.85
25	2 128.5	850.5	2 978.5	5 901	0.4	3.57	28.36	398.665	4.83	7.06	23.5	0.965
26	3 160	8 99	3 230.5	6 420.5	0.89	2.48	28.24	442.805	3.49	6.79	22.15	0.84
27	4 006	877	3 207.5	6 892.5	0.405	1.72	35.63	368.715	1.78	6.78	28.44	0.93
28	314.61	1 465	1 316.33	2 143.67	0.493	1.04	1 043	524.517	8.42	17.07	25.2	1.193
29	563.5	2 282.5	1 556	2 282.5	1.195	2.19	73.92	581.655	5.48	10.6	31.18	1.43
30	5 402	2 088.5	8 538	10 858.5	0.39	0.61	56.2	157.065	3.15	2.15	9.79	0.385

注: 1 ~ 27 大活络丸; 28: 茶叶; 29: 香砂养胃丸; 30: Vc 银翘片

2 无机元素指纹图谱和鉴别方法的建立

我们分别用向量相似法和成分数据统计中的非典型指数法这两种不同的方法建立大活络丸的无机元素指纹图谱，找出有较强鉴别区分的方法和标准。

2.1 向量相似法

向量相似法中^[6, 7]，行 $(x_1, x_2, \dots, x_N)$ 称为 N 维向量，简记为 X ，定义 $|X| = \sqrt{x_1^2 + x_2^2 + \dots + x_N^2}$ 为向量的模。称 $X \cdot Y$ 为向量 X 和 Y 的内积， X 和 Y 之间的向量夹角按照 (1) 式计算。 $\cos\theta$ 越接近 1 就说明两个向量越相似。

$$\cos\theta = \frac{X \cdot Y}{|X| \cdot |Y|} \tag{1}$$

Table 4 Inorganic elements quantification content of Dahualuo pills($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)

元素	Na	Mg	K	Ca	V	Cr	Mn	Fe	Ni	Cu	Zn	Sr
含量	1 986.88	1 092.85	3 102.73	6 736.73	1.79	4.37	32.86	571.95	4.3	7.53	24.34	0.98

2.1.2 计算相似度

根据表 4，由 (1) 式计算出用于建立标准的 20 个样品，用来建立标准的实验样品与标准含量向量的相似度计算结果，计算结果见表 5。

Table 5 Degree of similarity between the contained amount of the sample and the standard vectors

编号	相似度	编号	相似度	编号	相似度	编号	相似度
1	0.992 4	6	0.996 8	11	0.992 4	16	0.996 5
2	0.999 1	7	0.998 3	12	0.999 1	17	0.995 2
3	0.998 4	8	0.998 4	13	0.995 1	18	0.997 5
4	0.997 2	9	0.999 4	14	0.998 6	19	0.998 1
5	0.996 8	10	0.998 8	15	0.995 9	20	0.996 9

由表 5 可看出，用于建立标准的 20 个样品的相似度取值范围为 0.992 4 ~ 0.999 4，故我们取其相似临界值为 0.992 4。

2.1.3 建立大活络丸无机元素指纹图谱

根据表 4 中大活络各无机元素标准含量和表 5 中相似度临界值的计算结果，建立大活络丸无机元素指纹图谱见图 1。

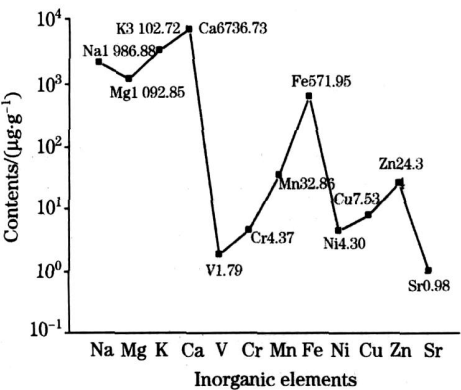


Fig 1 Inorganic elements fingerprint of dahualuo pills

每个待检验样品的无机元素含量构成的一组数值可看作是多维空间中的向量。这样指纹图谱的相似性问题就转化为两个向量的相似性问题。我们根据向量相似建立大活络丸的无机元素指纹图谱和研究制订指纹图谱相似临界值，鉴别区分是否是大活络丸等两部分组成。

2.1.1 建立指纹图谱

先抽取有代表性的样品计算各无机元素的标准含量，绘制无机元素指纹图谱。对表 3 的 27 个大活络丸样品取前 20 个样品用于建立大活络丸的无机元素标准含量(剩余 7 个样品用来检验建立的指纹图谱的有效性)，考虑计算的方便简洁而又不失一般性，我们取 20 个样品的各种无机元素的含量平均值作为大活络丸的标准含量，计算结果见表 4。

2.1.4 鉴别区分中药不同种类的有效性

由表 5 计算结果得知：相似度小于 0.992 4 的药品不是大活络丸。我们利用 (1) 式来检验编号为 21 ~ 30 的样品，计算相似度和鉴别结果见表 6。

Table 6 Test results of the samples

编号	相似度	检验结果	产品实际名称
21	0.997 378	大活络丸	大活络丸
22	0.995 153	大活络丸	大活络丸
23	0.994 805	大活络丸	大活络丸
24	0.999 417	大活络丸	大活络丸
25	0.997 881	大活络丸	大活络丸
26	0.987 59	不是大活络丸	大活络丸
27	0.974 38	不是大活络丸	大活络丸
28	0.860 162	不是大活络丸	茶叶
29	0.845 215	不是大活络丸	香砂养胃丸
30	0.967 864	不是大活络丸	Vc 银翘片

从表 6 数据表明，用向量相似性用于大活络丸的药品检验，在区分是非大活络丸药品准确率近似达百分之百。

2.2 成分数据分析法

考虑到成分数据特殊性，不适当的处理方法可能会带来结果的不准确性，所以采用成分对数比分析法^[8]对大活络丸与不同类中药的无机元素进行鉴别和区分。

先检验对数比数据阵是否服从加法逻辑正态分布，再用对数比协方差法建立标准，后用非典型指数法进行质量鉴别和区分。用非典型指数法则需要的样本数量最好要大些，因此选取了表 3 中编号为 1 ~ 25 号样品的数据用来建立标准库，26 ~ 30 号样品做为待检药品。

2.2.1 检验对数比数据阵

首先要检验对数比数据阵是否服从加法逻辑正态分布^[2]，若能服从正态分布才能用成分数据分析法。

根据成分对数比分析法，我们将表 3 数据合成 30 × 12 的成分数据矩阵 X ，由表 3 中 1 ~ 25 号样品测定的 12 种无机

元素计算出大活络丸对数比协方差数据阵的均值阵 (见表 7); 再将矩阵 X 转换成 30×12 的百分含量数据矩阵 Y , 然后再随机选取一个无机元素 (用表 3 中最后一个无机元素 Sr) 做为对数比的公共分母由 (2) 式转换为对数比协方差阵 (见

表 8)。

$$C_{i,j} = \log(y_{i,j}/y_{i,12}) \quad (i = 1, 2, \dots, 30; j = 1, 2, \dots, 11) \quad (2)$$

Table 7 Mean of the logratio of dahuluo pills

行号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
数据	7.54	7	8.06	8.83	0.39	1.32	3.5	6.31	1.43	2.06	3.21

Table 8 Covariance matrix of the logratio of dahuluo pills

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	0.1	0.02	0.02	0.01	0.02	0.07	0.01	0.02	0.03	0	0
2	0.02	0.02	0.01	0.01	0.04	0.02	0.01	0.02	0	0.01	0.008
3	0.02	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.009
4	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
5	0.02	0.04	0.01	0.02	0.23	0.04	0.03	0.04	0.1	0	0.003
6	0.07	0.02	0.01	0	0.04	0.29	0.02	0.04	0	0	-0.03
7	0.01	0.01	0.01	0.01	0.03	0.02	0.01	0.01	0	0.01	0.007
8	0.02	0.02	0.01	0.01	0.04	0.04	0.01	0.07	0	0.02	0
9	0.03	0	0.02	0.01	-0.1	0	0	0	0.24	0.02	0.018
10	0	0.01	0.02	0.01	0	0	0.01	0.02	0.02	0.04	0.011
11	0	0.01	0.01	0.01	0	0	0.01	0	0.02	0.01	0.019

由于计算中会带来误差, 根据要求, 由表 7 数据计算出其修正检验统计量值 (见表 9)。

Table 9 Value of modified test statistic of dahuluo pill

	Anderson-Darling	Cramer-Von Mises	Watson
边缘分布 i			
1	0.393 089	0.064 081	0.064 078
2	0.375 373	0.058 315	0.054 563
3	0.715 912	0.121 666	0.121 627
4	0.275 532	0.028 642	0.028 533
5	0.412 349	0.047 234	0.040 761
6	0.475 525	0.062 107	0.052 66
7	0.224 38	0.032 176	0.032 12
8	0.339 875	0.046 568	0.046 025
9	0.192 371	0.031 207	0.029 883
10	0.416 978	0.049 416	0.040 73
11	0.364 83	0.052 965	0.052 923
半径分布	1.343 266	0.208 631	0.213 277

查 F 临界值分布表得知, 在 2.5% 水平上与加法逻辑正态性是显著的。表明可以用成分数据分析法。

2.2.2 建立标准库标准

标准库标准见表 5。

2.2.3 检验待检药品

表 3 中 26~30 号样品为检验样品, 检验方法是计算其非典型指数, 样品检验结果见表 10。

对于成分数据集 X , 某成分 x 的非典型指数由 (3) 式给出

$$\Phi_{q(y)/\{q(y)+n\}}\{d/2, (n-d+1)/2\} \quad (3)$$

这里 $q(y) = (1 + 1/N)(Y - \mu)^T \Sigma(Y - \mu)$, μ 为对数比协方差阵 C 的均值估计阵, Σ 为 C 的方差估计阵, d 为总成分数减 1, n 为样品数, $\Phi(b, c)$ 为不完全贝塔函数。

Table 10 Test results of the samples

编号	非典型指数	检验结果	产品实际名称
26	0.444 265	大活络丸	大活络丸
27	0.985 201	大活络丸	大活络丸
28	1	不是大活络丸	茶叶
29	1	不是大活络丸	香砂养胃丸
30	1	不是大活络丸	Vc 银翘片

(1) 对标准库中样本容量中的 25 个数据进行特征提取, 非典型指数临界值取为 0.99。

(2) 由表 10 数据表明, 用非典型指数法建立标准库和检验产品是可行的, 而且检验效果较好。

3 结果与讨论

(1) 向量相似法和成分数据统计中非典型指数法用于大活络丸的研究, 说明多种方法对中药中无机元素具有较强的预测能力, 可区分和鉴别不同种类的中药。进一步肯定建立无机元素指纹图谱控制无机元素质量是可行的, 不是偶然的结果。

(2) 向量相似法与成分数据统计中的非典型指数法相比较。从表 6 中可见向量相似法要粗糙些, 因为 26 和 27 号样鉴别区分错了。从表 10 可以看出成分数据统计中的非典型指数法鉴别区分能力更准确, 全部鉴别区分正确。

(3)通过向量相似法和成分数据统计中的非典型指数法这两种方法的研究,制订出大活络丸检验标准:大活络丸样品的向量相似法:相似度大于0.992 4为合格品,小于0.992 4为不合格品。大活络丸样品的成分数据统计中的非典型指数法:非典型指数临界值大于0.99为合格品,非典型指数临界值小于0.99为不合格品。

(4)本文对江西樟树制药厂生产的大活络丸无机元素建立指纹图谱和鉴别不同种类中药进行研究,为中药中无机元素的质量标准的建立提供了新思路和新方法,今后,我们还要进一步探讨对于比较相似组方的中药的区分方法,以及建立能全国范围通用的中药无机元素指纹图谱及其鉴别方法。

参 考 文 献

- [1] XU Yong-qun, SUN Su-qin, FENG Xue-feng, et al(徐永群,孙素琴,冯学峰,等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2003, 23(3): 502.
- [2] TIAN Jin-guo, ZHANG Jing, REN Jian, et al(田进国,张静,任健,等). China Journal of Chinese Materia Medica(中国中药杂志), 2004, 29(4): 326.
- [3] CHEN Min-jun, CHENG Yi-yu, LIN Rui-chao(陈闽军,程翼宇,林瑞超). Chinese Traditional Patent Medicine(中成药), 2002, 24(12): 905.
- [4] ZHANG Qi-feng, DING Shu-liang, FAN Mei-mei, et al(张奇凤,丁树良,范玫玫,等). Chinese Journal of New Drugs(中国新药杂志), 2004, 13(7): 622.
- [5] ZHANG Qi-feng, DING Shu-liang, LIU Tao, et al(张奇凤,丁树良,刘韬,等). World Elemental Medicine(世界元素医学), 2002, 9(4): 54.
- [6] WANG Long-xing, XIAO Hong-bin, LIANG Xin-miao, et al(王龙星,肖红斌,梁鑫淼,等). Acta Pharmaceutica Sinica(药学报), 2002, 37(9): 713.
- [7] CHEN Yi-yu, CHEN Min-jun, WU Yong-jiang(程翼宇,陈闽军,吴永江). Acta Chimica Sinica(化学学报), 2002, 60(11): 2017.
- [8] Aitchison J. (J. 艾奇逊 著). The Statistical Analysis of Composition Data(成分数据的统计分析). Translated by ZHOU Di, ZHANG Guang-qian, et al(周蒂,张光前,等译). Wuhan: China University of Geosciences Press(武汉:中国地质大学出版社), 1990.

Atomic Absorption Fingerprint and Identification Studies of Da Huo Luo Pill

. Exploration of Inorganic Elements Fingerprint for Establishment of Industrial Standard

ZHANG Qi-feng¹, ZHU Long-yin², DING Shu-liang³, WANG Chen¹, TU Long-fei¹

1. Center of Analysis and Testing, Nanchang University, Nanchang 330047, China

2. Gannan Normal College, Mathematic and Computer College, Ganzhou 341000, China

3. Department of Computer, Jiangxi Normal University, Nanchang 330027, China

Abstract The fingerprints for most of Chinese medicines based on their organic compositions have been well established. Nevertheless, there are very few known fingerprints which are based on inorganic elements. In order to identify the Da Huo Luo Dan and its efficiency from other Chinese medicines, the authors attempted to set up a fingerprint which could be determined by the measurement of inorganic elements in Da Huo Luo Dan and other Chinese medicines. In the present study, the authors first employed 28 batches of Da Huo Luo Dan produced by Zhang-Shu Pharmaceutical Company in Jiang Xi Province to screen 12 kinds of inorganic elements measured by atomic absorption spectrophotometer and established the atomic absorption fingerprints. Secondly, the authors tried to identify Da Huo Luo Dan and other Chinese medicines by using the similarly analysis of vectors and the statistical analysis of compositional data. The result showed that the methods the authors used here were predictable to tell the efficiency of Da Huo Luo Dan from others. The authors' study also proves that establishment of standard for quality control by analysis of inorganic elements in Chinese medicines is feasible. The present study provides a new idea and a new technique that serve for the establishment of industrial standards for analysis of inorganic elements fingerprint to explore the effects of Chinese medicines.

Keywords Atomic absorption; Fingerprint of Da Huo Luo pills; Similarity between vectors; Statistical analysis of composition data

(Received Dec. 18, 2006; accepted Mar. 28, 2007)