

《中国药典》一部附录 VIB) 试验, 吸取上述两种溶液及阴性对照液各 $10\mu\text{L}$, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以正己烷 - 醋酸乙酯 (9 : 1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外灯 (365nm) 下视察, 供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点。阴性对照无干扰。(见图 4)。

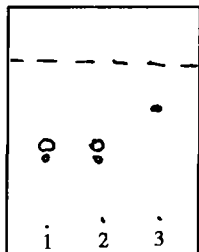


图 4 川芎的薄层色谱图

1 - 样品; 2 - 川芎对照药材溶液; 3 - 阴性对照液

2.5 陈皮的鉴别^[5] 取本品 10 粒, 加甲醇 10mL, 加热回流 20min, 滤过, 取滤液 5mL, 浓缩至约 1mL, 作为供试品溶液。另取橙皮甙对照品, 加甲醇制成饱和溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法(《中国药典》一部附录 VIB) 试验, 吸取供试品溶液及阴性对照液各 $10\mu\text{L}$, 对照品溶液 $2\mu\text{L}$, 分别点于同一用 1% 氢氧化钠溶液制备的硅胶 G 薄层板上, 以醋酸乙酯 - 甲醇 - 水 (100 : 17 : 13) 为展开剂, 至约 3cm, 取出, 晾干, 再以甲苯 - 醋酸乙酯 - 甲酸 - 水 (20 : 10 : 1 : 1) 的上层溶液为展开剂, 取出, 晾干, 喷以 10% 三氯化铝甲醇溶液, 置紫外光灯 (365nm) 下视察, 供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置

上, 显相同颜色的荧光斑点。阴性对照无干扰。(见图 5)。

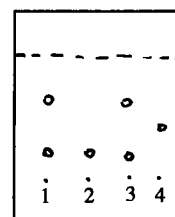


图 5 陈皮的薄层色谱图

1 - 样品; 2 - 橙皮甙对照品溶液;

3 - 陈皮对照药材溶液; 4 - 阴性对照液

3 讨论

3.1 女宝胶囊质量抽查中, 性状、水分、卫生学检验都有不合格者, 因没有定性定量指标, 其中药味组成按原标准检验更是难以控制, 必须提高质量标准。

3.2 女宝胶囊主药多以活血化瘀为主。方中红花为君药, 川芎、当归、白芍、陈皮均具有很好的活血、养血、行气、化淤功效, 是起主要作用的药味。本文对以上五味主药进行了多次薄层实验, 重现性好, 结果准确, 能够较好地控制女宝胶囊质量, 保证其临床用药安全有效。

参考文献:

- [1] 中国药典. 2000 年版. 一部[S]. 2000. 119.
- [2] 山东省中药炮制规范[M]. 山东: 友谊出版社, 2002. 53.
- [3] 卫生部药品标准. 中药制剂, 第十九册[S]. 85.
- [4] 中国药典 2000 年版. 一部[S]. 2000. 30.
- [5] 中成药中的药材薄层色谱鉴别[M]. 北京: 人民卫生出版社. 328.

收稿日期: 2003 - 10 - 28

聚类分析法在龟板鉴别中的应用

胡清宇(浙江省温州市药品检验所, 浙江 温州 325028)

摘要 目的: 建立一种新的龟板鉴别方法。**方法:** 以龟板各盾片比值为量化指标, 用聚类分析法进行聚类。**结果:** 本方法与传统的方法完全吻合。无需特殊仪器, 可排除人为干扰。**结论:** 该方法相对结构辨析方法有明确的界线, 为龟板的分类和鉴别提供了新思路。

关键词 聚类分析法; 龟板; 鉴别检查

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1006 - 0111(2003)06 - 0364 - 04

龟板为常用中药, 在《神农本草经》中被列为上品, 具有滋阴潜阳, 益肾强骨, 养血补心的功效^[1]。其来源药典规定为龟科动物乌龟 (*Chinemys reevesii*) 的背甲和腹甲^[2]。目前, 对其鉴别主要有: 性状^[3]、显微、理化、化学成分含量测定^[4]等, 这些方法均麻烦费时, 且对其性状的描述

比较模糊, 没有明确的界线, 因此对于其真伪的辨析有时难以把握。本文利用龟板各盾片比值为量化指标, 进行聚类, 结果令人满意。

1 材料及仪器

1.1 材料 来源见表 1。

1.2 仪器 游标卡尺; PC 机。

表 1 龟板及其混伪品试样来源

编号	品名	原动物来源	试样来源
1	龟板	龟科龟属乌龟 <i>Chinemys reevesii</i> (Gray)	丽水市药检所标本
2	龟板	龟科龟属乌龟 <i>Chinemys reevesii</i> (Gray)	金华医药站标本
3	龟板	龟科龟属乌龟 <i>Chinemys reevesii</i> (Gray)	《中药材鉴别图解》(刘宝玲主编)
4	黄喉水龟板	龟科水龟属黄喉水龟 <i>Chinemys mutica</i> (Cantor)	丽水市药检所标本
5	黄喉水龟板	龟科水龟属黄喉水龟 <i>Chinemys mutica</i> (Cantor)	遂昌县药检所标本
6	黄喉水龟板	龟科水龟属黄喉水龟 <i>Chinemys mutica</i> (Cantor)	丽水医药站标本
7	缅甸陆龟板	陆龟科陆龟属缅甸陆龟 <i>Testudo eLogata</i> (Blyth)	丽水市药检所标本
8	缅甸陆龟板	陆龟科陆龟属缅甸陆龟 <i>Testudo eLogata</i> (Blyth)	丽水医药站标本
9	缅甸陆龟板	陆龟科陆龟属缅甸陆龟 <i>Testudo eLogata</i> (Blyth)	金华医药站标本
10	平胸龟板	平胸龟科平胸龟 <i>Platysternon megacephalum</i> (Gray)	丽水市药检所标本
11	平胸龟板	平胸龟科平胸龟 <i>Platysternon megacephalum</i> (Gray)	家养活体
12	闭壳龟板	龟科闭壳龟属 <i>Cuora</i> 某龟(种待定)	金华医药站标本
13	闭壳龟板	龟科闭壳龟属 <i>Cuora</i> 某龟(种待定)	丽水医药站标本
14	大地龟板	龟科地龟属大地龟 <i>Geomyda grandis</i> (Smith)	丽水市药检所标本
15	眼斑沼龟板	龟科沼龟属眼斑沼龟 <i>Morenia ocellata</i> (Dum. et Bid)	丽水市药检所标本
16	眼斑沼龟板	龟科沼龟属眼斑沼龟 <i>Morenia ocellata</i> (Dum. et Bid)	丽水市药检所标本
17	眼斑沼龟板	龟科沼龟属眼斑沼龟 <i>Morenia ocellata</i> (Dum. et Bid)	丽水市药检所标本

2 方法与结果

2.1 量化指标的测量 将表 1 的龟板按图 1 所示准确测量六种盾片中缝线长度(Li)、左侧上缘宽度(Wi),按下式计算比值:

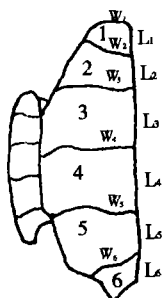


图 1 龟板各盾片标示图

1-额盾;2-肛盾;3-胸盾;4-腹盾;5-股盾;6-肛盾

Li 各盾片中缝线长度;Wi 各盾片上缘宽度;i ∈ {1,2,3,4,5,6}

$$A_i = L_i / W_i \quad i \in \{1, 2, 3, 4, 5, 6\}$$

Ai 为各盾片长宽之比,反映该盾片的形状。结果见表 2。

表 2 龟板及其混伪品 Ai 值矩阵

编号	品名	A1	A2	A3	A4	A5	A6
1	龟板	1.300	0.350	0.880	1.080	0.800	0.786
2	龟板	1.080	0.500	0.806	0.817	0.870	0.674
3	龟板	1.110	0.483	0.839	1.020	0.763	0.689
4	黄喉水龟板	0.784	0.667	0.744	0.820	0.735	0.667
5	黄喉水龟板	0.786	0.614	0.667	0.942	0.698	0.788
6	黄喉水龟板	0.906	0.702	0.702	0.933	0.833	0.690
7	缅甸陆龟板	1.000	0.638	0.500	1.560	0.744	0.226
8	缅甸陆龟板	1.200	0.875	0.800	1.325	0.609	0.138
9	缅甸陆龟板	0.780	1.110	0.625	1.519	0.687	0.252
10	平胸龟板	0.500	0.925	0.770	0.362	0.707	0.957
11	平胸龟板	0.475	0.974	0.730	0.460	0.593	1.020
12	闭壳龟板	1.720	0.349	0.788	0.889	0.169	1.110
13	闭壳龟板	1.910	0.386	0.910	0.985	0.205	1.032
14	大地龟板	1.250	0.842	0.764	1.070	0.717	0.725
15	眼斑沼龟板	1.359	0.825	0.738	0.979	0.467	0.843
16	眼斑沼龟板	1.292	0.882	0.833	1.000	0.553	0.780
17	眼斑沼龟板	1.129	0.789	0.778	0.926	0.426	0.848

2.2 聚类分析方法的应用

2.2.1 聚类统计量的选择 目前,度量样品间的亲疏程度的聚类统计量很多。本文采用欧氏距离和相似系数中的夹角余弦作为聚类统计量。公式如下:

$$\text{欧氏距离: } d_{ij} = \sqrt{\sum_{k=1}^m (x_{ik} - x_{jk})^2}$$

$$\text{相似系数(夹角余弦): } \gamma_{ij} = \frac{\sum_{k=1}^m (x_{ik} \cdot x_{jk})}{\sqrt{\sum_{k=1}^m x_{ik}^2 \cdot \sum_{k=1}^m x_{jk}^2}}$$

dij 为第 i 个样品与第 j 个样品之间的距离;γij 为第 i 个样品与第 j 个样品之间的相似系数;k 表示指标数。

2.2.2 聚类算法 采用最长距离法,即由相似程度最好的第 h 类和第 k 类所组成的新类 P 类,与其它各类的相似程度用下式计算:

$$d_{pi} = \max \{d_{hi}, d_{ki}\}; r_{pi} = \min \{r_{hi}, r_{ki}\}$$

2.2.3 相似矩阵的计算及聚类图的绘制 根据上述公式,采用 BASIC 语言在微机上通过运算,分别得到两个相似矩阵(表 3、表 4),及两个聚类图,见图 2,图 3。

3 讨论

3.1 本文对龟板的聚类分析无需特殊仪器,仅量取各盾片的长宽比值的六个指标,方法简便,同时排除人为干扰,结果与传统的分类完全吻合,为龟板的分类和鉴别提供了新思路。

3.2 从图 2 可看出,当 r = 0.989 时,可将各属龟板分开,即 a(正品乌龟)、b(黄喉水龟)、c(大地龟)、d(眼斑沼龟)、e(闭壳龟)、f(平胸龟属)、g、h、i(陆龟属);当 r = 0.869 时,又能将各科龟板分开,即 A(龟科)、B(平胸龟科)、C(陆龟科)。同样,从图 3 的欧氏距离聚类图上看,当 d 取不同值时,亦可将各属各科分开。

表3 龟板及其混伪品相似矩阵(相似系数)

编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1	*																
2	0.988 9	*															
3	0.995 70.994 0		*														
4	0.964 60.985 20.983 3			*													
5	0.968 40.978 40.983 40.994 4				*												
6	0.969 70.987 60.986 40.997 50.994 5					*											
7	0.912 00.900 70.927 70.908 00.915 90.926 1						*										
8	0.919 90.920 30.939 80.927 10.916 80.936 10.972 9							*									
9	0.861 30.873 90.897 00.917 00.915 10.925 30.970 80.968 3								*								
10	0.832 60.888 50.864 20.932 10.917 40.914 10.712 70.762 20.782 4									*							
11	0.827 50.876 50.860 60.929 50.922 00.911 60.723 00.766 90.798 10.995 3										*						
12	0.934 50.900 30.916 30.867 10.882 30.870 00.789 00.327 50.734 40.762 20.773 0											*					
13	0.941 60.907 80.924 20.871 10.881 40.874 80.808 20.852 40.751 80.750 90.758 90.997 4												*				
14	0.973 30.980 90.986 20.984 70.982 70.989 20.932 40.957 50.927 00.885 30.888 30.914 40.921 7													*			
15	0.962 40.960 70.970 00.961 70.964 10.964 40.895 20.932 80.888 60.873 00.882 20.953 40.956 70.990 3														*		
16	0.964 90.970 00.977 20.975 80.973 10.976 50.909 70.947 20.908 80.889 50.895 70.933 70.939 60.995 70.997 2															*	
17	0.959 80.961 00.971 20.972 00.974 60.970 00.888 60.926 20.893 80.898 60.909 60.942 70.943 80.988 60.996 30.996 7																*

表4 龟板及其混伪品相似矩阵(欧氏距离)

编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1	*																
2	0.402 1	*															
3	0.262 10.243 8		*														
4	0.685 40.371 00.436 4			*													
5	0.639 40.420 70.414 50.199 1				*												
6	0.584 50.311 40.347 60.201 90.226 4					*											
7	0.996 20.942 20.810 80.921 50.879 90.818 6						*										
8	0.894 80.876 70.764 00.877 60.913 40.796 60.517 1							*									
9	1.182 11.095 10.996 80.934 60.931 80.863 00.540 80.564 8								*								
10	1.240 30.912 11.039 30.665 20.744 40.795 21.541 51.449 51.408 5									*							
11	1.255 90.959 41.052 70.681 40.726 30.806 71.518 11.437 61.357 50.176 6										*						
12	0.853 51.058 00.969 51.225 01.159 11.189 01.499 11.369 61.700 21.552 81.521 8											*					
13	0.894 91.145 11.041 51.347 51.295 71.290 41.526 61.354 01.734 41.715 81.692 20.262 6												*				
14	0.517 70.487 50.400 00.560 70.545 30.418 60.814 60.652 80.859 21.060 51.045 80.972 51.014 1													*			
15	0.611 80.636 60.549 70.695 50.660 00.617 31.007 70.817 61.057 51.095 51.058 40.726 40.793 90.312 3														*		
16	0.593 90.580 40.495 10.624 90.616 30.538 10.955 30.728 40.961 01.046 51.018 50.859 10.904 80.207 20.169 0															*	
17	0.632 90.571 00.495 40.524 10.488 30.503 71.003 30.842 41.011 60.907 30.859 60.824 00.935 90.371 70.245 60.253 9																*

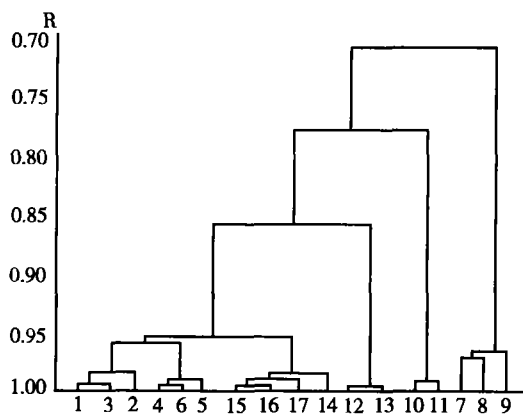


图2 龟板及其混伪品聚类图(相似系数)

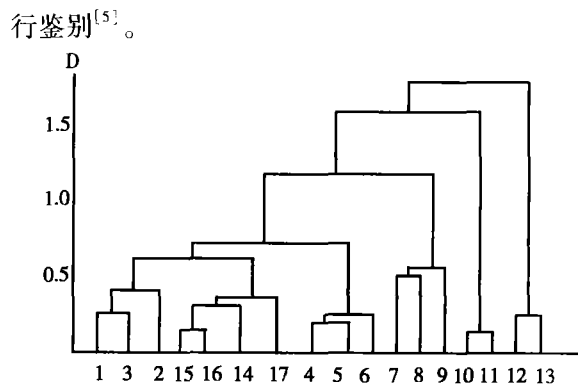


图3 龟板及其混伪品聚类图(欧氏距离)

3.3 当进行真伪龟板的鉴别时,只要规定某一临界水平(如 $r = 0.99$ 或 $d = 0.40$)时不再继续聚类,则可将伪品分开,亦可对正品龟板建立“标准模式”进

3.4 聚类分析中,指标值的选取非常关键,笔者曾采用各盾片的中缝线长度占总长的比例值为指标(即 $B_i = L_i/L$),进行聚类分析,结果水龟属与地龟属混为一类,其它各属各科基本上同本文法一致。

这是由于 Bi 只能反应龟板的部分特征,而本文以 Ai = Li/Wi 为指标更能全面地反应龟板的特征,这从聚类的结果也可得到验证。尽管如此,以 Bi 为指标值,进行真伪鉴别时也能得到满意的结果,但分类效果没有本法好。

3.5 由于缺少样品,故未能将所有的科、属龟板进行聚类,这有待于今后进一步完善。

参考文献:

[1] 清·孙冯翼、孙星衍辑《神农本草经》[M].北京商务印书馆,

1959.49.

[2] 中国药典.2000 年版.一部[S].

[3] 文瑞良,郭振良.三种龟板混淆品的性状鉴别[J].中药材,1994,17(9):24.

[4] 陆敏仪.四种龟板的鉴别和化学成分含量测定的比较[J].中药通报,1986,11(11):15.

[5] 李水福,胡清宇.标准模式相似系数法鉴别龟板的研究[J].中草药,1996,27(9):562.

收稿日期:2003-10-28

HPLC 法测定复方罗布麻片 I 中盐酸异丙嗪和氯氮草的含量

李冰,胡德福,刘斐(山东省药品检验所,山东 济南 250012)

摘要 目的:采用高效液相色谱法考察并建立了测定复方罗布麻片 I 中盐酸异丙嗪和氯氮草含量的方法。**方法:**色谱柱为 Phenomenex - ODS₃ 柱(250×4.60mm,5μm),甲醇-磷酸盐缓冲溶液(取磷酸二氢胺 2.64g,加水 1 000mL 溶解后,用磷酸调节 pH 值至 3.0)(55:45)为流动相,流速 1.0mL/min,检测波长为 250nm,进样量 20μL。**结果:**盐酸异丙嗪的线性范围为 5.1~60.8μg/mL($r=1.0000$),氯氮草的线性范围为 5.2~60.4μg/mL($r=0.9999$),平均回收率分别为 99.5% 和 101.2%。**结论:**本法精密度好,结果准确可靠,适用于该复方制剂的质量检验分析。

关键词 复方罗布麻片;盐酸异丙嗪;氯氮草;高效液相色谱法

中图分类号:R917 **文献标识码:**A **文章编号:**1006-0111(2003)06-0367-03

HPLC determination of promethazine hydrochloride and chlordiazepoxide in Fufang Luobuma Pian I

LI Bing, HU De-fu, LIU Fei (Shandong Institute for Drug Control, Jinan 250012, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: Promethazine Hydrochloride and Chlordiazepoxide were determined by HPLC in Fufang Luotuma Pian I. **METHODS:** Phenomenex - ODS₃ Column(250×4.60mm,5μm), the mobile phase consisted of a mixture of methanol - phosphate buffer(dissolved 2.64g NH₄H₂PO₄ in 1 000mL water, adjusted pH to 3.0 with H₃PO₄)(55:45) at a flow rate of 1.0 mL/min, detection was done at 250nm, the injection volume was 20μL. **RESULTS:** The method offered good linearity 5.1~60.8μg/mL for promethazine hydrochloride ($r=1.0000$), and 5.2~60.4μg/mL for chlordiazepoxide ($r=0.9999$). The average recovery rates were 99.5% and 101.2% respectively. **CONCLUSION:** This method is accurate and reliable for the quality control of this compound preparation.

KEY WORDS Fufang Luobuma Pian I; promethazine hydrochloride; chlordiazepoxide; HPLC

复方罗布麻片 I 具有良好的降低血压效果,并能有效地改善高血压症状,是一种常见的抗高血压药,被广泛地应用于临床。《国家药品标准》化学药品地方标准上升国家标准第十一册收录了复方罗布麻片 I 质量标准,处方中含有氢氯噻嗪、盐酸异丙嗪和氯氮草等西药成分,标准只对氢氯噻嗪的含量进

行了测定。对复方罗布麻片 I 中盐酸异丙嗪和氯氮草含量测定方法未见报道,为有效地控制药物质量,本文建立了用 HPLC 测定复方罗布麻片 I 中盐酸异丙嗪和氯氮草含量的方法。

1 仪器与试剂

Waters 组合式高效液相色谱仪,515 泵,717 自