

· 化学与分析 ·

## 不同产地雄黄及其炮制品中二硫化二砷 和可溶性砷含量比较

李化<sup>1</sup>, 赵明惠<sup>2</sup>, 梁爱华<sup>1</sup>, 李春英<sup>1</sup>, 王金华<sup>1</sup>, 薛宝云<sup>1</sup>, 杨滨<sup>1\*</sup>

(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 2. 广西中医药大学, 南宁 530001)

**[摘要]** **目的:**比较研究不同产地雄黄及其炮制品中主成分  $As_2S_2$  及可溶性砷盐  $As_2O_3$  的含量差异。**方法:**采用2010年版《中国药典》雄黄项下的滴定法测定不同产地雄黄及其炮制品中  $As_2S_2$  的含量,采用 AFS-230E 型原子荧光光度计检测上述样品中可溶性砷盐  $As_2O_3$  含量。**结果:**不同产地的雄黄及其炮制品中  $As_2S_2$ ,  $As_2O_3$  含量存在显著差异。雄黄炮制后,炮制品中  $As_2S_2$  含量均提高,  $As_2O_3$  含量均明显降低。除吉林和江苏2个产地的雄黄及其炮制品中  $As_2S_2$  含量 < 90.0%, 其余样品均符合药典规定;且雄黄炮制品中  $As_2O_3$  含量均能控制在  $1.7 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  以下。**结论:**研究结果可为指导雄黄临床合理用药提供参考依据。

**[关键词]** 雄黄; 二硫化二砷; 三氧化二砷; 含量测定

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)02-0049-04

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20121107.1342.011.html>

**[网络出版时间]** 2012-11-7 13:42

## Comparative Study on Contents of $As_2S_2$ and $As_2O_3$ in Realgar and Processed Products

LI Hua<sup>1</sup>, ZHAO Ming-hui<sup>2</sup>, LIANG Ai-hua<sup>1</sup>, LI Chun-ying<sup>1</sup>, WANG Jin-hua<sup>1</sup>, XUE Bao-yun<sup>1</sup>, YANG Bin<sup>1\*</sup>

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;  
2. Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530001, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the content difference of the principal component ( $As_2S_2$ ) and the soluble arsenic salt ( $As_2O_3$ ) in realgar and its processed products from different origins. **Method:**  $As_2S_2$  content was determined by titration based on the analysis method of realgar recorded in Chinese Pharmacopoeia (2010 edition), and  $As_2O_3$  content was detected using AFS-230E Atomic fluorescence spectrophotometer. **Result:** The contents of  $As_2S_2$  and  $As_2O_3$  were significantly different in realgar and its processed products from different origins. After processing,  $As_2S_2$  content in the processed products was obviously increased, while  $As_2O_3$  content was significantly reduced. Except that  $As_2S_2$  content in realgar and its processed products from Jilin province and Jiangsu province was less than 90.0%, the rest of the samples can meet the pharmacopoeia requirements, and  $As_2O_3$  content in all of the processed products can be controlled below  $1.7 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ . **Conclusion:** This findings can provide a reference for guiding rational clinical applications of realgar.

**[Key words]** realgar;  $As_2S_2$ ;  $As_2O_3$ ; content determination

**[收稿日期]** 20120820(497)

**[基金项目]** 国家“重大新药创制”科技重大专项(2009ZX09301-005); 国家科技部科研院所基础研究专项基金(2002DEB20067); 国家“十一五”科技支撑计划项目(2006BAI55B02-03)

**[第一作者]** 李化, 博士, 助理研究员, 从事中药材及其复方制剂的质量评价研究, Tel: 010-64014411-2848, E-mail: lihua621@hotmail.com

**[通讯作者]** \* 杨滨, 博士, 博士生导师, 研究员, 从事中药材及其复方制剂质量评价研究和抗氧化研究, Tel: 010-64014411-2848, E-mail: ybinmm@hotmail.com

雄黄是有毒中药材,具有解毒杀虫、燥湿祛痰、截疟等功效,传统上主要用于治疗痈肿疔疮、蛇虫咬伤、虫积腹痛、惊痫、疟疾<sup>[1]</sup>。近年来,雄黄及其复方制剂在治疗急性早幼粒细胞白血病<sup>[2]</sup>、慢性粒细胞白血病<sup>[3]</sup>、血液系统疾病<sup>[4]</sup>上卓有疗效。但因长期服用含雄黄的中药制剂引起慢性砷中毒的报道屡见不鲜<sup>[5-8]</sup>。雄黄的主要成分是  $As_2S_2$ <sup>[9]</sup> 或  $As_4S_4$ <sup>[10]</sup>,另含有少量的可溶性砷盐,以  $As_2O_3$  为主。研究报告  $As_2O_3$  既是雄黄的药效活性部分,又是毒性成分<sup>[11-12]</sup>。因此在制定雄黄及其炮制品的质量标准时,除了要规定主成分的含量,关键是要限定  $As_2O_3$  的含量,以保证雄黄既能充分发挥其疗效,又能最大限度地控制其毒性。

关于雄黄炮制的记载始见于《神农本草经》,历代沿用的炮制法主要有干研法、水飞法、煮法、熬法、油煎法、火飞法等。近代研究对雄黄的炮制方法又加以改进,研究发现酸洗法<sup>[13]</sup>和碱洗法<sup>[14]</sup>去除毒性成分  $As_2O_3$  的作用优于其他炮制工艺,其中酸洗法的去毒效果尤为显著<sup>[15-16]</sup>。

2010 年版《中国药典》一部中雄黄的质量控制,规定了雄黄总砷(以  $As_2S_2$  计)不得低于 90.0%,对可溶性砷盐  $As_2O_3$  限量没有规定,只是要求  $As_2O_3$  按砷盐检查法检测,所显的砷斑颜色不得深于标准砷斑<sup>[1]</sup>。但砷斑法是一种半定量的方法,准确度不够高,不能有效地控制  $As_2O_3$  的含量。氢化物发生-原子荧光光度法是一种灵敏度高,线性范围广,干扰少,准确度及精密度良好的方法,已在砷元素的含量测定中广泛应用<sup>[17-18]</sup>。本研究收集了 7 批不同产地的雄黄,以酸洗法炮制药材,采用 2010 年版《中国药典》雄黄项下的滴定法测定  $As_2S_2$  含量,采用 AFS-230E 型原子荧光光度计考察可溶性砷盐  $As_2O_3$  的含量,比较分析不同产地的雄黄及其炮制品中  $As_2S_2$ 、 $As_2O_3$  的含量差异,制定了雄黄炮制品中  $As_2O_3$  限量,结合本课题组对雄黄的毒理学研究结果<sup>[19]</sup>,拟定了雄黄炮制品的服用剂量。该研究结果可为指导雄黄临床合理用药提供科学依据。

## 1 材料

**1.1 仪器与试剂** AFS-230E 型全自动双道氢化物发生原子荧光光度计(北京海光仪器公司,配有计算机处理系统);HJ-3 型数显恒温磁力搅拌器(国华电器有限公司),2004MP6 型半微量电子显示天平(德国 Sartorius 公司),Scout Pro 型电子天平(美国 Ohaus 公司)。

所用试剂为 AR 级,酸为 GR 级,水为高纯水。

As 标准溶液( $1\ 000\ mg\cdot L^{-1}$ 和  $100\ mg\cdot L^{-1}$ ,国家标准物质中心提供,批号 GBW08611)。临用前将 As 标准溶液稀释至  $100\ \mu g\cdot L^{-1}$ 。氢氧化钠溶液( $5\ g\cdot L^{-1}$ ):称取 5 克氢氧化钠溶于高纯水中,稀释至 1 000 mL。硼氢化钾溶液(2%):称取 2.0 g 硼氢化钾溶于 100 mL  $5\ g\cdot L^{-1}$ 氢氧化钠溶液中,混匀。临用前现配。5% 硫脲-5% 抗坏血酸:称取 5.00 g 硫脲,5.00 g 抗坏血酸用 100 mL 去离子水使之溶解。临用前现配。

**1.2 药材** 收集了 7 批不同产地的雄黄(表 1),经中国中医科学院中药研究所梁爱华研究员鉴定为硫化物类矿物雄黄族雄黄,其炮制品按文献报道的方法<sup>[13]</sup>进行炮制。主成分  $As_2S_2$  在长时间放置过程中会氧化生成  $As_2O_3$ ,所以雄黄原粉和炮制品需要在真空条件下保存。

表 1 雄黄及其炮制品中  $As_2S_2$  和  $As_2O_3$  的含量( $n=2$ )

No.	来源	材料	$As_2S_2/\%$	$As_2O_3/mg\cdot g^{-1}$
1	湖南	原粉	91.71	2.80
2	湖南	炮制品	92.88	1.09
3	贵州	原粉	90.11	2.54
4	贵州	炮制品	90.61	1.70
5	江苏扬州	原粉	68.31	2.32
6	江苏扬州	炮制品	84.46	1.42
7	浙江杭州	原粉	96.38	1.30
8	浙江杭州	炮制品	97.43	1.19
9	吉林	原粉	58.24	2.27
10	吉林	炮制品	62.86	1.68
11	湖南长沙	原粉	92.64	1.87
12	湖南长沙	炮制品	95.25	1.11
13	山东益寿堂	原粉	92.46	1.04
14	山东益寿堂	炮制品	98.39	0.75

## 2 方法与结果

### 2.1 $As_2O_3$ 含量的测定

**2.1.1 仪器工作条件** 灯电流 As 60 mA,光电倍增管负高压 290 V,原子化器高度 8 mm,载气流量  $300\ mL\cdot min^{-1}$ ,屏蔽气流量  $800\ mL\cdot min^{-1}$ ,测量方法标准曲线法,读取方式峰面积,读数时间 10 s,延迟时间 1 s。断续流动氢化物发生装置蠕动泵的设置条件见表 2。

表 2 断续流动氢化物发生装置蠕动泵的条件设定

步骤	时间 /s	A 泵转速 / $r\cdot min^{-1}$	B 泵转速 / $r\cdot min^{-1}$	读数
1	10	100	100	NO
2	16	120	120	YES

**2.1.2 砷标准溶液系列的配制** 分别精密吸取砷

标准溶液( $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 0.0, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 mL 于 10 mL 量瓶中,加入 2 mL 5% 硫脲-5% 抗坏血酸混合液,0.5 mL 浓盐酸,用高纯水稀释至刻度,摇匀,配制成含砷为 0.0, 2.0, 4.0, 8.0, 16.0  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  标准溶液系列,放置 30 min 后待测。

**2.1.3 供试品溶液的测定** 取本品细粉 0.2 g,精密称定,分别加稀盐酸 20, 20, 10 mL,依次磁力搅拌 30, 30, 10 min,滤过;加高纯水 10 mL 磁力搅拌 2 次,每次 5 min,滤过,合并滤液,置 100 mL 量瓶中,加高纯水至刻度,摇匀,即得。精密吸取 0.2 mL 上述溶液置 10 mL 比色管中,加高纯水稀释至刻度,摇匀。再从中精密吸取 0.5 mL 置 5 mL 比色管中,加浓盐酸 0.25 mL,硫脲 1.0 mL,用高纯水稀释至刻度,摇匀。同时做试剂空白溶液,均放置 30 min 后待测。

#### 2.1.4 标准曲线和检测限

**2.1.4.1 标准曲线绘制** 以浓度( $C$ )为横坐标,荧光强度值( $IF$ )为纵坐标绘制标准曲线。回归方程为  $IF = 141.85 C + 13.196$ ,  $r = 0.999 9$ ,结果表明在  $0 \sim 16 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  有良好的线性关系。

**2.1.4.2 检出限测定** 在最佳仪器条件下,连续测定空白荧光值 11 次,求得空白值的标准偏差。然后在测量条件中输入的标准溶液系列做一工作曲线,根据斜率和检测限公式计算,得出砷的检出限为  $12 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

**2.1.5 精密度试验** 取同一样品溶液连续测定 6 次,含量的 RSD 5.01%。实验结果表明仪器的精密度较好。

**2.1.6 稳定性实验** 样品溶液分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 在上述条件下测定,放置时间在 10 h 内含量的 RSD 1.65%,表明样品溶液在 10 h 内稳定。

**2.1.7 重复性试验** 取同一批样品 0.2 g,共 8 份,分别精密称定,按 2.1.3 项下的方法制备,在上述条件下测定,样品含量均值为  $1.067 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ,其 RSD 5.41%,表明该方法重复性较好。

**2.1.8 加样回收率试验** 分别称取已知含量的样品 5 份,精密称定,精密加入砷标准溶液溶液( $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 2 mL,按 2.1.3 项下的方法制备,在上述条件下测定,平均回收率为 103.44%,RSD 2.01%,表明该方法准确可靠。结果见表 3。

**2.1.9 样品测定** 取不同产地的雄黄(粉碎)及其炮制品按 2.1.3 项下的方法制备,在上述条件下测定,计算含量,结果见表 1。

表 3 雄黄中砷加样回收率试验

No.	样品重 /g	样品中 含量 /ng	测得量 /ng	回收率 /%	均值 /%	RSD /%
1	0.223 06	238	447	104.50		
2	0.237 94	254	465	105.56		
3	0.203 52	217	423	102.92	103.44	2.01
4	0.201 28	215	415	100.12		
5	0.199 39	213	421	104.13		

注:加入量均为 200 ng。

**2.2  $\text{As}_2\text{S}_2$  含量的测定** 按照 2010 年版《中国药典》一部雄黄项下的含量测定方法<sup>[1]</sup>测定,结果见表 1。

### 3 结论

供试品溶液制备方法的考察,比较了人工搅拌和磁力搅拌 2 种方法,发现采用磁力搅拌法,不仅方便、搅拌强度可控,而且  $\text{As}_2\text{O}_3$  的提取率高于人工搅拌。进一步考察磁力搅拌的次数(1, 2, 3 次),结果表明磁力搅拌 2 次,供试品中的  $\text{As}_2\text{O}_3$  基本能提取完全。

从样品测定结果看,不同产地的雄黄中主成分  $\text{As}_2\text{S}_2$  和毒性成分  $\text{As}_2\text{O}_3$  含量数值差别较大,这可能是影响雄黄安全性和有效性的原因之一。其中,吉林和江苏 2 个产地的雄黄及其炮制品中  $\text{As}_2\text{S}_2$  含量低于 90.0%,其他 5 个产地的雄黄及其炮制品中  $\text{As}_2\text{S}_2$  含量均符合 2010 年版《中国药典》(一部)规定。研究发现,7 批雄黄经炮制后除去了一些可溶性杂质,炮制品中主成分  $\text{As}_2\text{S}_2$  含量提高;可溶性砷盐  $\text{As}_2\text{O}_3$  含量明显降低,且炮制品中  $\text{As}_2\text{O}_3$  含量均能控制在  $1.7 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  以下,达到了炮制去毒的目的。同时,在雄黄砷的蓄积性研究<sup>[19]</sup>发现,在雄黄中的可溶性砷含量  $\leq 1.7 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  的条件下,人(体重 60 kg)服用雄黄的相对安全剂量及其用药时间约为 160 mg 用药 1~2 周;20 mg 用药 2~4 周;10 mg 用药 4~6 周。该研究结果可为确保其雄黄临床用药的安全性和有效性提供参考。

[致谢]可溶性砷盐的含量研究在北京大学公共卫生学院完成,得到了王京宇教授、解清讲师的帮助。

#### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:236.
- [2] 贾彦民,刘陕西. 雄黄治疗急性早幼粒白血病的临床研究[J]. 中国基层医药,2004,11(2):138.
- [3] 周霁祥,姚宝森,郑金福,等. 青黄散治疗慢粒 25 例近期疗效观察[J]. 中西医结合杂志,1981,1(1):16.

# 掌叶半夏脂溶性成分 GC-MS 研究

栾阳, 张慧\*, 康廷国\*

(辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116600)

**[摘要]** 目的:分析掌叶半夏脂溶性成分的化学成分。方法:对乙醇提取后氯仿萃取得到的脂溶性成分进行了 GC-MS 分析。HP-5MS 色谱柱(0.25 mm×0.25 mm×30 m);程序升温,进样口温度 280 ℃,进样量 1.0 μL,分流比 10:1。结果:共分离鉴定出三氯乙酸 1.86%,顺式-1,2-环己二醇 3.56%,庚基氢过氧化物 1.66%,Z 型-2-十一碳烯 5.54%,1-丁氧基-2-乙基己烯 4.13%,吡咯并[1,2-A]吡嗪-1,4-二酮 6.36%,棕榈酸 23.32%,10-十一碳炔酸 33.81%,环戊烷十一酸 1.11%,2,5-咪唑,3-苄基-6-异丙基 2.95%,2-溴(正)壬烷 1.04%,吡咯并[1,2-A]吡嗪-1,4-二酮,六氢-3(苯)5.73%,4-乙基四氢-2H-噻喃 1.77%,1,2,2-溴二十二烷 1.26%,1,1-二氯-2,2,3,3-四甲基环丙烷 2.31%,(Z,Z,Z)-6,9,12-十八三烯苯基甲基酯等 19 种成分。结论:进一步确定了掌叶半夏脂溶性部分的化学成分,为掌叶半夏的抗肿瘤作用深入研究提供参考。

**[关键词]** 掌叶半夏;脂溶性成分;气相色谱-质谱联用

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)02-0052-03

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20121107.1340.009.html>

**[网络出版时间]** 2012-11-7 13:40

**[收稿日期]** 20120804(007)

**[基金项目]** 辽宁省教育厅创新团队基金项目(2009T006)

**[第一作者]** 栾阳,在读硕士,从事中药质量标准与创新药物研究, Tel:15604086649, E-mail:Luan1987yang@163.com

**[通讯作者]** \*张慧,副教授, Tel:13998541994, E-mail:syyyes@163.com; \*康廷国,教授, Tel:13386858833, E-mail:syyyes2000@sina.com

- [4] 宝国章. 牛黄解毒片引起血小板减少 1 例 [J]. 中医杂志, 1983, 24(3):56.
- [5] 张力, 高思华, 周超凡, 等. 从牛黄解毒片(丸)看含砷中成药的安全性问题 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(23):2010.
- [6] 史宇翔. 牛黄解毒丸过量致严重不良反应 1 例 [J]. 医药导报, 2001, 20(7):440.
- [7] 李振鲁, 李建国, 张守民, 等. 医源性慢性砷中毒 2 例 [J]. 临床皮肤科杂志, 2006, 35(1):34.
- [8] 伍健芝, 陈丽琨, 郑红. 长期服用牛黄解毒片致慢性砷中毒 1 例的护理体会 [J]. 职业与健康, 2006, 22(19):1643.
- [9] 陈宪平, 赵武生, 陈进. 雄黄雌黄的电镜-能谱仪分析 [J]. 中草药, 1999, 30(6):435.
- [10] 梁国刚, 张启伟. 朱砂、雄黄中各成分的溶解度对其药效、毒副作用的影响 [J]. 中国中药杂志, 2002, 27(5):391.
- [11] 张娟, 刘启德, 汤毅珊. 雄黄中砷的毒副作用研究进展 [J]. 中国药房, 2007, 18(15):1178.
- [12] 叶祖光, 王智民, 王跃生, 等. 安宫牛黄丸中朱砂和雄黄的药理作用特点与安全性评价研究 [J]. 医学研究通报, 2005, 34(9):35.
- [13] 原思通, 张广强, 田圣志, 等. 雄黄炮制新工艺的探索 [J]. 中药通报, 1988, 13(8):17.
- [14] 裴月梅, 杨士友, 顾家华, 等. 牛黄解毒颗粒剂制备工艺中雄黄的炮制方法及其可溶性砷盐的含量测定 [J]. 中国中药杂志, 1995, 20(10):599.
- [15] 钟萌. 雄黄炮制降毒方法的研究进展 [J]. 中国药房, 2007, 18(33):2633.
- [16] 忻丁烯, 毕安国. 雄黄中三氧化二砷的除去方法 [J]. 中国中药通报, 1983, 8(5):21.
- [17] 杨莉丽, 高丽荣, 张德强. 氢化物发生-原子荧光光谱法测定中草药中不同形态的砷 [J]. 分析科学学报, 2003, 19(6):515.
- [18] 董玉英, 冉亚莉. 氢化物发生-原子荧光法测定螺旋藻制品中的砷 [J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(6):696.
- [19] 梁爱华, 李春英, 王金华, 等. 雄黄的毒性研究 [J]. 中国中药杂志, 2011, 14(36):1889.

[责任编辑 顾雪竹]