

- Biol*, 2016, 54(11): 2753-2760.
- [9] Er T K, Tsai E M, Tsai L Y, et al. *In vitro* effects of arecoline on sperm motility and cyclooxygenase-2 expression [J]. *J Toxicol Sci*, 2006, 31(1): 75-82.
- [10] Zhou Z S, Li M, Gao F, et al. Arecoline suppresses HaCaT cell proliferation through cell cycle regulatory molecules [J]. *Oncol Rep*, 2013, 29(6): 2438-2444.
- [11] 侯文珍, 马长华, 杨乐, 等. 基于文献资料的槟榔安全性分析[J]. *中国药物警戒*, 2016, 13(7): 417-421.
- [12] 国家食品药品监督管理局药品审评中心. 药物遗传毒性研究技术指导原则[S]. 2007: 7-10.
- [13] 国家食品药品监督管理局. 药物非临床研究质量管理规范[J]. *中国医药导刊*, 2003, 5(5): 364-366.
- [14] 袁伯俊, 王志乔. 新药临床前安全性评价与实践[M]. 北京: 军事医学科学出版社, 1997: 78-88.
- [15] 中华人民共和国卫生部, 保健食品检验与评价技术规范[S]. 2003: 189-197.
- [16] 袁伯俊, 廖明阳, 李波. 药物毒理学实验方法与技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007, 263-268.
- [17] 莫叶勤, 冯洁, 蒙志斌, 等. 毛郁金醇提物的急性毒性和遗传毒性研究[J]. *毒理学杂志*, 2015, 29(3): 238-241.
- [18] International conference on Harmonisation (ICH) technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. ICH harmonized tripartite guideline: guidance on genotoxicity testing and data interpretation for pharmaceuticals intended for human use S2 (R1) (2008) [EB/OL]. [2010-12-16]. <http://www.fda.gov/cber/gdlns/ichs2geno.htm>.
- [19] 潘雪莉, 魏绍峰, 张方倩, 等. 氨基吡啶酸对小鼠骨髓细胞微核及中国仓鼠肺细胞染色体畸变的影响[J]. *贵阳医学院学报*, 2011, 36(4): 347-350.
- [20] 黄晓洁, 邢成锋, 魏刚, 等. 三清滴丸的遗传毒性研究[J]. *中成药*, 2013, 35(10): 2082-2088.
- [21] 高梅, 曹冲, 朱春花, 等. 人参皂苷 R_d 对中国仓鼠肺细胞染色体畸变作用[J]. *中国药物警戒*, 2013, 10(3): 133-136.
- [22] 姜智换, 邹娜, 王博, 等. 微核试验的研究进展[C] //中国毒理学会第七次全国毒理学大会暨第八届湖北科技论坛论文集. 武汉: 湖北省科学技术协会, 中国毒理学会, 2015: 311-312.
- [23] 王心如. 毒理学基础[M]. 6版. 北京: 人民卫生出版社, 2012: 145-152.
- [24] 黄燕, 钟振国, 罗沛. 两种 Ames 试验方法在蒲公英子提取物致突变试验中灵敏度的研究[J]. *时珍国医国药*, 2009, 20(7): 1578-1579.

藏药佐太在模拟胃液、肠液中的汞溶出差异

张明^{1,2,3}, 毕宏涛^{1,2}, 李岑^{1,2}, 杜玉枝^{1,2}, 魏立新^{1,2*}

(1. 中国科学院西北高原生物研究所, 青海 西宁 810001; 2. 青海省藏药药理学和安全性评价研究重点实验室, 青海 西宁 810001; 3. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 目的 比较佐太在模拟胃液、肠液中的汞溶出差异。方法 收集 16 批佐太, 测定其总汞含量, 以及在模拟胃液、肠液中溶出的汞质量浓度, 并计算其溶出量。结果 16 批样品中总汞含量为 44.46%~50.7%, 在模拟胃液中的汞溶出量为 432.64~51 817.64 ng, 差异 120 倍; 在模拟肠液中的汞溶出量为 19.81~313.29 ng, 差异 16 倍。结论 佐太在模拟胃液中的汞溶出量和差异均显著高于在模拟肠液中, 本研究可为其质量研究提供参考。

关键词: 佐太; 汞; 溶出; 模拟胃液; 模拟肠液

中图分类号: R927.11

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2018)10-2302-03

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2018.10.039

佐太是藏语“仁青欧曲佐珠钦木”的简称, 又译“佐塔”“佐台”, 是生产“七十味珍珠丸”“仁青常觉”“仁青芒觉”等珍宝类藏药的重要原料, 在藏医临床上它并不单独使用, 而是在藏药配方中起到增加药物疗效、减轻副作用、生肌健脾、滋补强壮的功效^[1]。佐太炮制工

艺复杂, 在不同地区均有所差异, 自古以来都是藏医药体系中的最高机密, 直到 1990 年专利公开才揭开了神秘面纱^[2], 但目前相关产品尚无统一质量标准。

由于汞是一种有毒的重金属元素, 故它在佐太中的大量存在导致临床应用安全性受到广泛关注。佐太主要成分

收稿日期: 2017-09-15

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81374063); 青海省重点实验室专项(2017-ZJ-Y08)

作者简介: 张明(1982—), 男, 博士生, 从事藏药药理学和药物代谢动力学研究。Tel: 18697266309, E-mail: jeff7@163.com

* 通信作者: 魏立新(1967—), 男, 研究员, 从事藏药药理学、毒理学研究。Tel: (0971) 6143668, E-mail: lxwei@nwpb.cas.cn

为β-HgS和单质硫^[3]，不同产地、批次中前者含有量较稳定，平均值为54.5%^[4]，并且不溶于酸^[5]，在酸性条件下的溶度积常数 K_{sp} 为 2.0×10^{-32} ，理论上不能在模拟胃液中溶出，但文献[6]报道，佐太中在模拟胃液中溶出大量汞，含有量显著高于β-HgS。因此，本实验进一步对16批不同产地、批次佐太在模拟胃液、模拟肠液中的汞溶出量进行了测定，以期为其炮制工艺标准化及质量标准制定提供参考。

1 材料

1.1 样品 佐太由青海、西藏、甘肃等地的藏医院和藏药生产企业提供，具体见表1。

表1 样品信息

序号	来源	编号
1	青海省藏医院	QZ20100913-1
2	青海省藏医院	QZ20100913-2
3	青海省藏医院	QZ20100913-3
4	青海省藏医院	QZ20141208
5	青海省西宁九康药业仁青藏药行	JK20080317
6	青海省西宁九康药业仁青藏药行	JK20080421
7	青海省西宁九康药业仁青藏药行	JK20080427
8	青海省久美藏药厂	JM20081023-1
9	青海省久美藏药厂	JM20081023-2
10	青海省久美藏药厂	JM20081023-3
11	青海省玉树州藏医院	YS20080916
12	西藏自治区藏医院	XZ20060801
13	西藏自治区藏医院	XZ20070602
14	西藏自治区藏医院	XZ20080903
15	西藏自治区藏药厂	XZ20110725
16	甘肃省藏医药研究院	GS20101108

1.2 仪器 固相液相直接测汞仪 (DMA-80, 意大利 Milestone 公司); 超纯水仪 (Mili-Q-Reference, 美国 Millipore 公司); 电子天平 (ME204, 瑞士 Mettler-Toledo 公司); PH 计 (PB-10, 德国 Sartorius 公司); 水浴恒温振荡器 (SHA-BA, 常州朗越仪器制造有限公司); 可调温电热板 (ML-34, 北京中兴伟业仪器有限公司); 高速低温离心机 (3K-15, 美国 Sigma 公司)。

1.3 试剂 盐酸 (优级纯)、磷酸二氢钾、氢氧化钠、硫酸、硝酸钾、氯化钠 (分析纯)、高纯氧。模拟胃液、肠液 (不含胃蛋白酶、胰蛋白酶) 配制方法参照《美国药典》^[7]，模拟胃液: 将 2.0 g 氯化钠溶于 500 mL 超纯水中，加入 7.0 mL 浓盐酸，混匀后超纯水稀释至 1 L，即得，pH 约为 1.2; 模拟肠液: 将 6.8 g 磷酸二氢钾溶于 250 mL 超纯水中，搅拌溶解后加入 77 mL 0.2 mol/L 氢氧化钠和 500 mL 超纯水，0.2 mol/L 氢氧化钠或盐酸调节 pH 至 6.8，超纯水稀释至 1 L，即得。

2 方法

2.1 总汞含有量测定 参考课题组前期建立的消解方法^[4,8]，精密称取佐太粉末 50 mg，置于 50 mL 锥形瓶中，加入 2.5 g 硝酸钾和 10 mL 硫酸，电热板上直火加热 30 min 后放冷 30 min，消解液转移至 100 mL 量瓶中，3% 硝酸定

容至 100 mL，测定时用 3% 硝酸稀释 1 000 倍，并且当天完成。计算公式为总汞含有量 (%) = 稀释液中汞质量浓度 (ng/mL) × 1 000 × 100 mL / [佐太称样量 (mg) × 10⁶]。

2.2 模拟胃液、模拟肠液中的汞溶出 精密称取佐太粉末 65 mg，置于 60 mL 广口瓶中，加入 45 mL 模拟胃液或肠液，振荡混匀，置于水浴恒温摇床中，根据人体温和胃肠排空时间，于 37 °C、100 r/min 下回旋振荡温孵 3 h^[9]。取温孵液 2 mL，10 000 × g 离心 20 min，取上清液，测定汞溶出量，计算公式为汞溶出量 (ng) = 溶液中汞质量浓度 (ng/mL) × 溶液体积 (mL)。

2.3 汞含有量测定^[6] 仪器最低定量限为 0.1 ng，连续测定 100 ng/mL 汞标准液 10 次，测得其 RSD 为 0.45%，表明精密度良好。以 0~1 000 ng/mL 汞标准液上样 0.1 mL，根据汞吸收峰峰高自动绘制汞标准曲线，在 0.1~100 ng 范围内线性关系良好， $R^2 = 0.9998$ 。

2.4 统计学分析 通过 SPSS 21.0 软件进行统计学处理，结果以 ($\bar{x} \pm s$) 表示，组间比较采用独立样本 t 检验。

3 结果

3.1 总汞含有量 表 2 显示，不同产地、批次佐太中总汞含有量差异不大，平均值为 46.73%，折算成硫化汞为 54.2%，与前期研究一致^[4]。

表2 总汞含有量测定结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

编号	总汞/%
QZ20100913-1	45.09 ± 0.90
QZ20100913-2	44.36 ± 1.67
QZ20100913-3	45.99 ± 0.37
QZ20141208	50.79 ± 1.07
JK20080317	50.49 ± 1.25
JK20080421	47.17 ± 1.42
JK20080427	47.16 ± 0.37
JM20081023-1	44.75 ± 0.78
JM20081023-2	45.73 ± 0.49
JM20081023-3	44.77 ± 0.52
YS20080916	47.30 ± 0.95
XZ20060801	47.00 ± 2.06
XZ20070602	45.61 ± 1.45
XZ20080903	47.02 ± 1.21
XZ20110725	47.56 ± 1.80
GS20101108	46.89 ± 1.12

3.2 模拟胃液中汞溶出量 表 3 显示，不同产地、批次佐太在模拟胃液中的汞溶出量差异很大，在 432.64~51 817.64 ng 范围内，相差 120 倍。整体而言，不仅在不同产地药材中差异很大，在同一产地不同批次中亦然。

3.3 模拟肠液中汞溶出量 表 3 显示，佐太在模拟肠液中的汞溶出量显著低于在模拟胃液中，不同产地、批次药材汞溶出量差异较大，在 19.81~313.29 ng 范围内，相差 16 倍，但程度不如在模拟胃液中。

4 讨论

在我国传统医药体系中，大量含汞的中药、藏药、蒙药仍在临床上广泛应用，这些药物中汞的主要存在形式均

表3 模拟胃液、肠液中汞溶出量测定结果 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

编号	汞溶出量/ng	
	模拟胃液	模拟肠液
QZ20100913-1	6 877.32 ± 158.05	313.29 ± 47.84**
QZ20100913-2	1 975.95 ± 200.14	284.52 ± 43.12**
QZ20100913-3	3 662.01 ± 328.92	86.94 ± 24.87**
QZ20141208	3 678.99 ± 373.12	160.75 ± 49.08**
JK20080317	1 580.37 ± 63.34	65.32 ± 6.27**
JK20080421	505.46 ± 59.35	37.90 ± 9.02**
JK20080427	432.64 ± 28.45	72.80 ± 10.76**
JM20081023-1	5 485.01 ± 54.62	160.49 ± 39.91**
JM20081023-2	5 414.99 ± 292.95	29.23 ± 2.55**
JM20081023-3	1 883.75 ± 82.33	22.86 ± 1.89**
YS20080916	1 448.09 ± 62.36	95.26 ± 21.14**
XZ20060801	1 834.20 ± 236.56	20.92 ± 1.15**
XZ20070602	2 927.02 ± 318.29	23.11 ± 5.02**
XZ20080903	1 734.07 ± 100.38	19.81 ± 0.69**
XZ20110725	51 817.64 ± 1 044.52	158.75 ± 2.42**
GS20101108	16 531.84 ± 453.08	35.22 ± 5.53**

注:与模拟胃液比较,** $P < 0.01$

为硫化汞,包括红色的 α -HgS和黑色的 β -HgS,其中朱砂中的主要为前者,而藏药佐太和蒙药银朱中的主要为后者^[3,10-12],两者均不溶于水,理论上难以在胃肠道中被吸收,应具有较好的临床安全性。

本实验显示,不同产地、批次佐太在模拟胃液中的汞溶出量存在很大差异。佐太炮制过程主要包括水银洗炼、水银粉末加工、佐太药粉配制3个阶段^[2],其中水银粉末加工阶段是在加热大石盘上对洗炼过的水银和硫磺避光研磨3d,该过程中的主要反应为汞和硫反应生成硫化汞,但同时满足了汞和氧气反应生成氧化汞的条件,后者具有见光分解生成汞和氧气的性质,避光研磨或为保留该成分,同时在该过程中较可能存在未完全参与反应的单质汞,因此,佐太在模拟胃液中的溶出汞可能来源于这一阶段产生的氧化汞和单质汞,研磨过程中加热温度、研磨时间不同可能导致模拟胃液中汞溶出量差异显著。

另外,佐太在模拟肠液中的汞溶出量远低于在模拟胃液中,其原因可能为溶液pH变化所致。单质汞和氧化汞在酸性条件下的溶解度均优于在中性条件下^[13],模拟胃液、肠液的pH分别约为1.2、6.8,故佐太在后者中的汞溶出量远低于在前者中。

佐太是治疗胃部疾病药物仁青常觉、仁青芒觉中的重要成分^[14]。幽门螺旋杆菌是导致胃溃疡的公认病因之一^[15],而汞盐具有去腐生肌、消炎杀菌的功效,国外一项临床研究表明,汞合金补牙患者的幽门螺旋杆菌感染率显著低于未补牙患者^[16-17],汞离子可能通过杀灭幽门螺旋杆菌来达到治疗胃溃疡的效果,故佐太在模拟胃液中的溶出汞可能是治疗胃溃疡等胃部疾病的药效物质基础,但其在模拟胃液中的汞溶出量差异达到了120倍,可能导致临床应用安全性和有效性不同。因此,在后续研究中应确定佐太在模拟胃液中汞溶出量的合理范围,并在该药材质量控

制、药效、安全性等方面的研究中加以利用。

参考文献:

[1] 杨宝寿,江吉村,降 拥,等. 藏药“佐塔”中汞的作用特点和安全性研究[J]. 西藏研究,2004(1): 74-80.

[2] 格 穷. 药用水银粉末(坐台)的加工方法: 中国, CN1038406[P]. 1990-01-03.

[3] 李 岑,占 堆,楞本才让,等. 藏药佐太的化学成分、汞配位结构及微观形貌分析[J]. 光谱学与光谱分析, 2015,35(4): 1072-1078.

[4] 夏振江,魏立新,王东平,等. 藏药炮制品“佐太”的质量标准研究[J]. 中药材,2010,33(5): 688-690.

[5] Berger L I, Frenkel M, Koh C A, et al. CRC handbook of chemistry and physics[M]. 95th ed. Boca Raton: CRC Press, 2014: 201-202.

[6] 郑植元,李 岑,张 明,等. 含HgS传统药物朱砂和佐太中汞的胃肠道溶出及吸收蓄积研究[J]. 中国中药杂志, 2015,40(12): 2455-2460.

[7] United States Pharmacopeia[S]. 32th ed. 2009.

[8] 王东平,魏立新,杜玉枝,等. 藏药“佐太”中硫化汞含量测定的方法学考察[J]. 时珍国医国药,2010,21(6): 1359-1361.

[9] 魏少阳,朱胤龙,梁馨月,等. 朱砂在不同消化液中溶出汞的含量测定及影响因素分析[J]. 中国医院药学杂志, 2012,32(7): 494-496.

[10] 齐惠杰,琳 静,白音夫,等. 特色蒙药材黑辰砂物理常数与组分测定[J]. 中国民族医药杂志,2008,14(12): 60.

[11] Zhao X Y, Sun M, Wang J X, et al. Characterization of Tibetan medicine Zuota by multiple techniques[J]. *Bioinorg Chem Appl*, 2013, 2013: 198545.

[12] Li C, Yang H X, Du Y Z, et al. Chemical species, micromorphology, and XRD fingerprint analysis of Tibetan medicine Zuotai containing mercury[J]. *Bioinorg Chem Appl*, 2016, 2016: 7010519.

[13] The Merck Index [CD]. 2001. Monograph Number 5908, 5909, 5925.

[14] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.

[15] 张伟群,李 妍,金大治,等. 胃溃疡患者与健康体检人群幽门螺旋杆菌检测结果比较分析[J]. 中国农村卫生事业管理, 2014,34(10): 1307-1309.

[16] Aktaş B, Başyigit S, Yüksel O, et al. The impact of amalgam dental fillings on the frequency of *Helicobacter pylori* infection and *H. pylori* eradication rates in patients treated with concomitant, quadruple, and levofloxacin-based therapies[J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2015, 27(7): 769-775.

[17] Rooney J P, Frissen M N, Bass G A, et al. Dental amalgam fillings and *Helicobacter pylori* eradication rates: wide-ranging implications[J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2015, 27(10): 1231.