

· 学术论坛 ·

雄黄水飞法的炮制工艺优选

龚千锋 任建锋 钟凌云 易炳学 王丕明 朱龙涛 余香

【摘要】 目的 优选雄黄水飞炮制方法的最佳工艺条件。**方法** 以研磨成糊状的加水量、总的用水量、干燥温度和干燥时间为因素水平,用 $L_9(3)^4$ 正交设计对炮制条件进行优选。采用紫外分光光度法测定雄黄中可溶性砷盐 $As(III)$ 的含量。**结果** 雄黄水飞的最佳炮制工艺为取 10 g 雄黄样品研磨成糊状的加水量为 3 ml、总的用水量为 300 倍、干燥温度 40℃、干燥时间 2 小时。**结论** 正交试验确定的最佳工艺合理、可靠、重复性好。

【关键词】 雄黄; 三氧化二砷; 正交试验; 紫外分光光度法

【中图分类号】 R283.3 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2012.02.009

雄黄为单斜晶系矿物雄黄 Realgar, 主含二硫化二砷 (As_2S_2)。其炮制方法为水飞法^[1], 三氧化二砷作为其中的毒性杂质(含三价砷)检查必须符合规定。该药为 28 种毒性药材之一^[2]。雄黄其性状为块状或粒状结合体, 呈不规则块状。深红色或橙红色, 条痕淡橘红色, 晶面有金刚石样光泽。质脆, 易碎, 断面具树脂样光泽。微有特异的臭气, 味淡。质松脆, 手捏即成粉, 橙黄色, 无光泽^[3]。雄黄入药炮制始于《神农本草经》, 历代沿用的制法有干研法、水飞法、煮法、熬法、油煎法、复制法等, 中国药典规定的雄黄炮制方法是水飞法。本实验采用紫外分光光度法测定毒性成分 As_2O_3 即 $As(III)$ 的含量。优选雄黄水飞法最佳炮制工艺, 为雄黄的炮制工艺和质量控制研究提供科学依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

AB104-N 万分之一电子分析天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司); TE612-L 电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司); UV-3100PC 型紫外可见分光光度计(上海美谱达仪器有限公司); GZX-9070MBE 数显鼓风干燥箱(上海博讯实业有限公司医疗设备厂); SHZ-D(III) 循环水式真空泵(巩义市英峪予华仪器厂); 二乙基二硫代氨基甲酸银装置(Ag-DDC)砷化氢发生瓶等。

1.2 试剂

基金项目: 国家中医药管理局 2010 年中医药行业科研专项(201007011)

作者单位: 330004 南昌, 江西中医学院药学院[龚千锋、钟凌云、易炳学、任建锋(硕士研究生)、王丕明(硕士研究生)、朱龙涛(硕士研究生)、余香(硕士研究生)]

作者简介: 龚千锋(1952-), 教授, 博士研究生导师。主要从事中药炮制研究工作。E-mail: gongqf2006@163.com

实验所用试剂包括: 乙醇、盐酸、酸性氯化亚锡、硫酸、醋酸铅、碘化钾、砷试剂、氯仿、三乙胺、锌粉、醋酸铅棉花均为分析纯, 水为双蒸水。

1.3 药材及对照品

雄黄药材购于江西樟树天齐堂饮片有限公司, 经江西中医学院药学院葛菲教授鉴定为硫化物类矿物雄黄族雄黄。标准砷溶液(样品编号: 11031), 购于中国计量科学研究院。

2 方法与结果

2.1 样品含量测定

2.1.1 炮制方法 取雄黄粉 10 g 样品至研钵中, 加水适量, 研磨 5 分钟至糊状, 再加水适量搅拌 1 分钟, 静置 2 分钟, 倾取混悬液, 下沉的粗粉继续研磨, 如此反复操作数次, 除去杂质, 合并各次混悬液, 静置 2 小时, 倾去上清液, 抽滤, 干燥, 研散, 即得。

2.1.2 标准砷溶液的制备 标准砷溶液为 100 mg/L, 精密量取 1 ml 至 100 ml 的容量瓶中定容至刻度, 摇匀。得标准砷溶液浓度为 1 μg/ml。

2.1.3 标准砷溶液吸光度的测定 用紫外分光光度计在波长为 510 nm 处测定吸光度^[1]。

2.1.4 供试品溶液制备及其 $As(III)$ 含量测定 精密称取水飞雄黄 500 mg 于锥形瓶中, 加稀盐酸 20 ml, 不断搅拌 30 分钟, 滤过, 残渣用稀盐酸洗涤 2 次, 10 ml/次, 搅拌 10 分钟。洗液与滤液合并, 置 250 ml 量瓶中, 加水至刻度, 摇匀, 精密量取 5 ml, 置 100 ml 量瓶中, 加水至刻度, 摇匀, 即得供试品溶液。精密量取供试品溶液 40 ml 于砷化氢发生瓶中, 加盐酸 5 ml, 再加碘化钾试液 5 ml 与酸性氯化亚锡试液 250 μl, 在室温放置 10 分钟后, 加入无砷锌粉 4 g, 立即接上塞有醋酸铅棉花的导气管, 通入盛有 5 ml 的 Ag-DDC 吸收管中, 25℃ 反应 1 小时, 取出吸收管, 用氯仿补至 5 ml, 将部分吸收

液移入 1 cm 吸收池中,以二乙基二硫代氨基甲酸银试液作空白,用紫外分光光度计在波长为 510 nm 测吸收值^[5,6],测得样品中 As(Ⅲ)的含量为 4.76 mg/g。

2.1.5 线性关系考察 精密吸取标准砷溶液(1 μg/ml) 4.0、8.0、10.0、12.0、16.0、20.0 ml,分别置砷化氢发生瓶中,按 2.1.3 项下方法进行,在分光光度计上 510 nm 波长处测定吸收度。以含 As(Ⅲ)为横坐标,吸收度为纵坐标,得回归直线方程 $A=0.0085+0.0297X$, $r=0.9995$ 。在 4~20 μg 范围内线性关系良好。

2.1.6 精密度试验 精密吸取标准砷溶液 8.0 ml 共 6 份,按“2.1.4”项下方法进行,得 RSD 为 2.68%。结果表明精密度良好。

2.1.7 稳定性试验 精密量取砷标准溶液 8.0 ml,于砷化氢发生瓶中,按“2.1.4”项下方法于 50 分钟内每隔 5 分钟取样测定,得 RSD 为 1.93%。表明在 50 分钟内稳定性良好。

2.1.8 重复性试验 精密量取砷标准溶液 8.0 ml 共 5 份,于砷化氢发生瓶中,按“2.1.4”项下方法分别进行测定,得到平均含量 3.91 mg/g, RSD 为 1.19%。结果表明该方法重现性好。

2.1.9 加样回收率试验 称取雄黄粉末 0.25 g,共 6 份,置于锥形瓶中,分别加入标准砷溶液(100 μg/ml)0.8、0.8、1.0、1.0、1.2、1.2 ml,按供试品溶液的制备方法制备和含量测定方法测定,计算回收率。结果雄黄平均回收率为 98.92%, RSD=2.15% ($n=6$)。

2.2 正交试验优选炮制工艺

以 As(Ⅲ)的含量为考察指标,以研磨成糊状的加水量(A)、总的用水量(B)、干燥温度(C)、干燥时间(D)为 4 个因素,水飞炮制工艺因素、水平见表 1。由因素水平表绘制 $L_9(3)^4$ 正交试验表见表 2。

表 1 水飞炮制工艺因素、水平表

水平	研磨成糊状的加水量(ml)	总用水量(倍)	干燥温度(℃)	干燥时间(h)
1	2	100	40	1
2	3	200	60	2
3	4	300	80	3

本次实验中, $R_a=0.010$ 最小,它对整个试验结果影响最小。因而把它作为误差估计,用以检验其他因素作用的显著性。进行方差分析统计,从表 2、表 3 结果分析可以看出,4 因素的影响大小依次为 $B>D>C>A$,且 B、D 因素影响具有显著性。综合分析各个因素对 As(Ⅲ)溶出率的影响,确定最佳提取工艺为 $A_2B_3C_1D_2$,即研磨成糊状加 3 ml 水、总的用水量为 300 倍、干燥温度为 40℃、干燥时间 2 小时。

表 2 $L_9(3)^4$ 正交试验表

试验号	研磨成糊状的加水量(ml)	总用水量/倍	干燥温度(℃)	干燥时间(h)	As(Ⅲ)含量(%)
1	1	1	1	1	0.486
2	1	2	2	2	0.412
3	1	3	3	3	0.298
4	2	1	2	3	0.476
5	2	2	3	1	0.452
6	2	3	1	2	0.265
7	3	1	3	2	0.450
8	3	2	1	3	0.413
9	3	3	2	1	0.360
Σ I	1.196	1.412	1.164	1.298	
Σ II	1.193	1.277	1.248	1.127	
Σ III	1.223	0.923	1.200	1.187	
I	0.399	0.471	0.388	0.433	
II	0.398	0.426	0.416	0.376	
III	0.408	0.308	0.400	0.396	
R	0.010	0.163	0.028	0.057	

表 3 方差分析表

因素	离差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
总的用水量(B)	0.043	2	0.021	233.615	0.004
干燥温度(C)	0.001	2	0.001	6.505	0.133
干燥时间(D)	0.005	2	0.003	27.571	0.035

3 验证实验

分别精密称取三批水飞雄黄粉末 0.5 g 分别置于锥形瓶中,加稀盐酸 20 ml,不断搅拌 30 分钟,滤过,残渣用稀盐酸洗涤 2 次,10 ml/次,搅拌 10 分钟。洗液与滤液合并,置 250 ml 量瓶中,加水至刻度,摇匀,精密量取 5 ml,置 100 ml 量瓶中,加水至刻度,摇匀,精密量取 40 ml 于砷化氢发生瓶中,按“2.1.4”项下进行测定,结果雄黄粉末中可溶性砷平均含量为 2.77 mg/g。雄黄生品的含量见“2.1.4”项下供试品含量。

4 讨论

2010 版《中国药典》规定雄黄的炮制品是:取雄黄水飞法水飞,晾干。具体的操作中水飞的各个环节没有具体的量化指标,实验中主要探讨水飞雄黄在炮制中研磨成糊状的加水量,总的用水量,干燥温度,干燥时间。据文献报道总的用水量为 15 倍,三价砷随着用水量的增加和操作次数的增加,雄黄中三氧化二砷的含量随之降低,尽可能使用水量增多^[4]。实验中采用 300 倍量的水得知总的用水量是保证水飞质量的重要因素,是必须量化控制的指标,具体用多少倍

量的水最好没有文献报道,搅拌一次用多少量的水还有待进一步研究。但在大量生产中采用的是水磨烘干,实验中考察干燥温度和干燥时间。

从水飞雄黄研磨至糊状的加水量来看,加水量对研磨成糊状有显著影响。随加水量增加,药材的润湿度、黏稠度及均匀度逐渐变好,粒径也逐渐变小,以加 3 ml 量水研磨 5 分钟成糊状为最佳^[7]。

本文以 As(Ⅲ)的含量作为控制雄黄毒性的指标,采用紫外分光光度法测定雄黄及其炮制品中游离砷的含量,经方法学考察结果准确,稳定性、精密性及重现性良好,方法可靠。

参 考 文 献

[1] 龚千锋. 中药炮制学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2003:366.

- [2] 张邦启,金鹏辉. 雄黄药材质量标准亟待修订[J]. 中国药品标准,2009,10(6):409.
- [3] 中华人民共和国药典[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010:316.
- [4] 姜泓,丁敬华,张颖花,等. 雄黄水飞法炮制工艺探讨[J]. 中药材,2009,32(1):1.
- [5] 施寄村. 应用 Ag-DDC 法测定雄黄可溶性砷的方法学研究[J]. 中国现代应用药学,1998,15(1):36-38.
- [6] 黄珍,万丽,赵力,等. 分光光度法测定雄黄及牛黄解毒片中可溶性砷的含量——牛黄解毒片中雄黄的系统研究(Ⅰ)[J]. 时珍国医国药,2003,14(4):195-196.
- [7] 李超英,魏秀德,王凯,等. 雄黄水飞炮制工艺及其机制研究[J]. 中国药房,2008,19(27):2151-2153.

(收稿日期:2011-09-22)

(本文编辑:秦楠)

中医药治疗狂犬病文献回顾

陈珊珊 危剑安 黄霞珍

【摘要】 狂犬病是一种由感染狂犬病病毒引起的侵害中枢神经系统的急性病毒性传染病,临床以狂躁恐水为主要特征。中国是狂犬病最为严重的流行区之一。狂犬病可防不可治,现代医学尚没有成熟的治疗方案,其病死率几乎 100%。本文介绍了中医药治疗狂犬病的相关经验。文章通过对中医药治疗狂犬病的相关文献进行回顾性分析,发现中医药对狂犬病的认识和干预较早,部分单味药物对狂犬病的发病可能有一定的预防和治疗作用。并且随着中医药理论的逐渐发展和成熟,出现了一些可能对狂犬病的发病有一定作用的成方,包括部分家传验方。本文所采用病例报告文献虽然资料相对老旧,其严谨性及可信度值得进一步商榷。但是在当今狂犬病发病率日益增长,且临床尚没有成熟治疗方案的严峻情况下,传统医学在此方面的相关经验或许可以为寻找治疗狂犬病的方法提供新的思路和启发,中医药治疗狂犬病值得进一步研究探讨。

【关键词】 狂犬病; 中医药; 治疗

【中图分类号】 R511 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2012.02.010

1 狂犬病现代防治概述

狂犬病,又称为“恐水症”、“疯狗病”、“狗咬伤”,是一种侵害中枢神经系统的急性病毒性传染病,病原体为狂犬病病毒,一般经由受感染动物咬伤而感染。临床以狂躁、恐水

为主要特征,主要表现为特有的恐水、怕风、恐惧、兴奋、咽肌痉挛、流涎、进行性瘫痪,最后因呼吸、循环衰竭而死亡。人群对狂犬病普遍易感,感染狂犬病病毒之后,一旦发病,病情急重,预后极差,病死率几乎 100%^[1]。狂犬病广泛分布于全世界,中国是最为严重的流行区之一。

当前狂犬病是可以预防的,恰当充分的预防措施可以大大降低其发病率,但是狂犬病发病后尚无有效的治愈手段。对狂犬病的预防首先是对家畜的免疫接种,其次是狂犬病病毒暴露后的处理,包括彻底清创和疫苗注射。人在被宿主动物咬伤或抓伤后应该立刻进行受伤部位的彻底清洗和消毒处理,包括肥皂水冲洗至少 20 分钟以上、用碘伏或酒精充分擦拭伤口以及彻底清除污染组织。而后应尽早进行免疫预防,最好是狂犬病免疫球蛋白和狂犬病疫苗联合使用。但是,对于狂犬病发病后的治疗,目前还没有任何一种抗病毒

作者单位:100053 北京,中国中医科学院广安门医院艾滋病研究室

作者简介:陈珊珊(1986-),女,硕士,住院医师。主要从事中西医结合治疗病毒性疾病。E-mail:chenshan986@163.com

通讯作者:危剑安(1963-),主任医师,教授。研究方向:中西医结合治疗病毒性疾病临床及实验研究。E-mail: jiananwei@hotmail.com

文献标引格式:

龚千锋,任建锋,钟凌云,等. 雄黄水飞法的炮制工艺优选[J]. 环球中医药,2012,5(2):112-114.