

拔毒生肌散中红粉、轻粉的测定

李 莉^{1,2}, 夏 晶², 彭韦楠², 曹 帅², 李丽敏², 季 申^{1,2*}

(1. 中国医药工业研究总院, 上海 201203; 2. 上海市食品药品检验所, 国家药品监督管理局中药质量控制重点实验室, 上海 201203)

摘要: **目的** 测定拔毒生肌散中红粉、轻粉的含量。**方法** 建立红粉的专属提取法和总汞的微波消解法, 火焰原子吸收分光光度法测定提取液中汞含量。将拔毒生肌散中总汞量减去红粉中汞含量, 即为轻粉中汞含量。**结果** 汞在 1~50 $\mu\text{g/mL}$ 范围内线性关系良好 ($r=0.999\ 7$), 红粉、轻粉中汞平均加样回收率分别为 96.31%、100.96%, RSD 分别为 5.2%、2.8%。9 批样品中红粉质量分数为 57.1~65.2 mg/g (以汞计), 轻粉质量分数为 47.5~58.1 mg/g (以汞计)。**结论** 该方法操作简便, 准确度高, 专属性强, 可用于拔毒生肌散中红粉、轻粉的质量控制, 并实现了两者的差异化提取。

关键词: 拔毒生肌散; 红粉; 轻粉; 汞; 火焰原子吸收分光光度法

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2021)06-1591-03

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.06.038

拔毒生肌散来源于清代名医赵廷海秘制伤药方, 由红粉、黄丹、轻粉、煅石膏等 8 味药材组成, 临床上用于治疗久溃不愈的疮、疡、痈, 能有效改善伤口愈合情况, 减少伤口愈后瘢痕挛缩, 尤其在糖尿病足上具有良好的效果^[1-4]。依据本草考证结果, 拔毒生肌散中君药红粉是水银、硝石、白矾或水银和硝酸炼制而成的红氧化汞 (HgO), 具有拔毒排脓、去腐生肌的功效, 但有大毒; 臣药轻粉是升华法炼制而成的氯化亚汞 (Hg_2Cl_2), 可攻毒敛疮, 加强君药去腐的功效, 但也有毒^[5-10], 两者为方中必不可少的功效物质, 但其所含有的大量汞可通过皮肤吸收反复用于局部创面, 会引起慢性蓄积, 对多种器官产生损伤, 使用不当可能导致汞急性中毒^[11-15]。因此, 需对制剂中红粉、轻粉进行科学有效的质量控制。

拔毒生肌散现行质量标准^[16]以碘量滴定法测定轻粉含量, 电位滴定法测定红粉含量, 但前者数据不稳定、重复性较差, 后者数据偏高, 导致现行方法无法有效控制制剂中含汞矿物药的质量, 产生临床应用安全风险。本研究旨在建立专属性更强、准确度更高的含量测定方法, 用于拔毒生肌散中红粉、轻粉的质量控制, 以期保证患者用药安全。

1 材料

1.1 仪器 S and M series 型原子吸收分光光度仪 (美国 Thermo 公司); Milli-Q 超纯水机 (美国 Millipore 公司); 电子天平 (德国 Sartorius 公司); MARS 5 型微波消解仪 (美

国 CEM 公司); 水浴锅 (美国 Polyscience 公司); 涡旋仪 (美国 Scientific Industries 公司)。

1.2 试剂与药物 拔毒生肌散[健民集团叶开泰国药(随州)有限公司]。汞标准溶液 (HC957309, 1 000 mg/L , 德国 Merck 公司)。硝酸、盐酸均为分析纯 (德国 Merck 公司); 水为去离子水 (经 Milli-Q 超纯水机处理)。

2 方法与结果

2.1 仪器工作条件 针对拔毒生肌散中汞含量高的问题, 本实验采用火焰原子吸收分光光度仪进行检测, 具体见表 1。

表 1 仪器工作条件

光谱仪参数	具体设定值	火焰参数	具体设定值
检测波长	253.7 nm	火焰类型	Air-C ₂ H ₂
狭缝	0.5 nm	燃气流量	1.2 min/L
测量时间	4 s	助燃气	关
背景校正	氘灯	喷雾时间	4 s
重复测样数目	3	燃烧器高度	7.0 mm

2.2 对照品溶液制备 精密量取汞标准溶液适量, 5% 硝酸分别制成每 1 mL 含 1、2、5、10、20、50 μg 该元素的溶液, 即得。

2.3 供试品溶液制备

2.3.1 溶液 1 (红粉提取) 精密称取散剂 0.1 g, 置于 250 mL 具盖塑料瓶中, 加入 200 mL 水后密塞, 涡旋 2 min,

收稿日期: 2019-12-10

基金项目: 上海科委研发平台专项 (18DZ2292200); 上海科委技术标准专项 (18DZ2200900); 药品医疗器械审评审批制度改革子课题 (中药) (ZG2016)

作者简介: 李 莉 (1994—), 女, 硕士生, 从事生药学研究。Tel: 18616120546, E-mail: lilixf66@163.com

* 通信作者: 季 申 (1963—), 女, 主任药师, 博士生导师, 从事中药质量标准和安全性检测研究。E-mail: jishen2013@163.com

网络出版日期: 2020-04-27

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20200426.1741.002.html>

40 ℃水浴加热 7 h，取出，冷却至室温，摇匀后取 50 mL 于离心管中，3 900 r/min 离心 5 min，取 10 mL 上清液至 20 mL 量瓶中，加 10% 硝酸稀释至刻度，即得（离心后应立即取出上清液）。

2.3.2 溶液 2（总汞提取） 精密称取散剂 0.1 g，置于聚四氟乙烯消解罐中，加入 5 mL 硝酸-盐酸混合溶液（4：1）后进行消解，程序见表 2，完成后将溶液转移至 50 mL 塑料量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀，离心，取 1 mL 上清液于 10 mL 量瓶中，5% 硝酸定容至刻度，即得。同法制备空白溶液。

表 2 微波消解程序			
梯度	1	2	3
温度/℃	初始温度~120	120~160	160~190
升温时间/min	5	5	4
维持时间/min	2	5	20

2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系考察 取对照品溶液适量，在“2.1”项条件下测定。以吸光度为纵坐标（A），溶液质量浓度为横坐标（X）进行回归，得方程为 $A = 0.001\ 90X - 0.000\ 7$ （ $r = 0.999\ 7$ ），在 1~50 μg/mL 范围内线性关系良好。按“2.3”项下方法制备 21 份空白溶液，火焰原子吸收分光光度法测定吸光度，以 S/N=3 时的质量浓度为检测限，测得其数值为 0.62 mg/L。

2.4.2 专属性试验 按“2.3”项下方法制备缺红粉、轻粉+红粉的阴性样品，发现前者中汞含量接近检测限，而后者中低于检测限，表明制剂中红粉含量测定受轻粉等其他药味的干扰较小，总汞含量测定几乎不受影响。

2.4.3 稳定性试验 按“2.3”项下方法制备供试品溶液

1、2，于 0、20、24 h 在“2.1”项条件下测定，测得红粉中汞含量 RSD 为 2.3%，总汞含量 RSD 为 2.9%，表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.4.4 重复性试验 精密称取散剂 0.09、0.10、0.11 g，按“2.3.1”项下方法制备供试品溶液 1，在“2.1”项条件下测定，测得红粉中汞含量 RSD（ $n = 9$ ）为 2.8%；另精密称取 0.09、0.10、0.11 g，按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液 2，在“2.1”项条件下测定，测得轻粉中汞含量 RSD（ $n = 9$ ）为 4.4%，表明该方法重复性良好。

2.4.5 加样回收率试验 精密称取红粉中汞含量已知的散剂 0.05 g，分为低、中、高 3 组，每组加入汞含量已知的红粉适量，按“2.3.1”项下方法制备供试品溶液 1，在“2.1”项条件下测定，计算回收率，结果见表 3；另精密称取总汞含量已知的散剂 0.05 g，分为低、中、高 3 组，每组加入汞含量已知的轻粉适量，按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液 2，在“2.1”项条件下测定，计算回收率，结果见表 4。

2.5 样品含量测定 采用上述方法对 9 批样品进行测定，结果见表 5。

3 讨论

3.1 关键性技术 拔毒生肌散中红粉、轻粉均为含汞矿物药，如何实现两者分离是本研究的难点。调研文献〔17-18〕结合前期研究发现，红粉在低浓度酸溶液中的溶解性良好，而轻粉不溶于低浓度酸溶液，由此本实验创建了一种间接测定法用于制剂轻粉所含汞含量的测定：先准确测得拔毒生肌散红粉中汞含量，再准确测定拔毒生肌散中总汞量，后者减去前者，即得。

3.2 红粉、轻粉的差异化提取 在寻找制剂中红粉的专属

表 3 红粉中汞加样回收率试验结果（ $n = 9$ ）

原有量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD%
3.23	2.37	5.72	105.04	96.30	5.20
3.25	2.46	5.76	102.11		
3.23	2.35	5.55	98.58		
3.25	2.90	6.00	94.67		
3.26	2.83	5.92	93.70		
3.30	2.81	6.00	95.98		
3.15	3.26	6.08	90.08		
3.16	3.27	6.11	90.17		
3.27	3.52	6.67	96.41		

表 4 轻粉中汞加样回收率试验结果（ $n = 9$ ）

原有量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
5.51	2.20	7.74	101.03	100.96	2.8
5.61	2.12	7.73	99.70		
5.53	2.17	7.65	97.36		
5.54	2.63	8.33	105.77		
5.52	2.56	8.18	103.81		
5.51	2.62	8.12	99.61		
5.53	3.07	8.58	99.38		
5.65	3.10	8.70	98.55		
5.70	3.37	9.18	103.41		

表 5 红粉、轻粉含量测定结果（以汞计， $n=2$ ）		
批号	红粉/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	轻粉/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)
150401	57.1	53.1
160501	64.1	49.5
161201	58.2	58.1
161202	65.2	47.5
161203	62.8	48.9
170301	64.6	48.8
180301	62.7	49.9
180302	63.7	52.8
180303	64.0	49.5

提取溶剂时，本实验先选择 10% 硝酸（轻粉原料不溶），发现提取液中汞含量远高于拔毒生肌散中的理论量，其原因可能为方中轻粉所含的汞亦有溶出，而且轻粉原料与制剂中轻粉存在溶解性差异，严重干扰了红粉的专属提取。进一步考察水（红粉在 20 ℃ 水中的溶解度为 0.005%^[18]）及 0.1%、0.5%、1% 硝酸或盐酸对制剂中红粉所含汞提取率的影响，发现除水外其余溶剂的提取率均大于 100%，表明以水为提取溶剂较为可行。再对以水为溶剂的提取方式、提取温度、提取时间等影响制剂中红粉所含汞提取的因素进行考察，最终确定该药材提取方法为 40 ℃ 水浴中温浸 7 h，既能实现制剂中其专属提取，又能保证其所含的汞基本不溶出。

4 结论

红粉、轻粉的功效和毒性均不同，故测定两者含量对拔毒生肌散的质量控制具有重要意义。本实验建立了拔毒生肌散中红粉、轻粉的差异化提取方法，采用微波消解法提取总汞，可保证两者含量的准确测定；火焰原子吸收分光光度法专属牲比滴定法更好，准确度也更高，以其测定汞含量可解决现行标准中相关方法准确度低、缺乏专属牲的问题，能科学有效地监控方中两者质量，保障其临床安全应用。

参考文献：

[1] 游冬阁, 杨艳霞, 裴学军, 等. 拔毒生肌散临床应用[J]. 世界中医药, 2016, 11(7): 1381-1383.

[2] 陶 毅. 不同方法治疗慢性缺血性糖尿病足溃疡的疗效比较[J]. 湖北中医杂志, 2015, 37(6): 17-18.

[3] 路艳丽. 拔毒生肌散的毒性特点及方中炉甘石对汞毒性的影响研究[D]. 北京: 中国中医科学院, 2013.

[4] 查丽春. 拔毒生肌散治疗糖尿病足感染性溃疡的临床观察[J]. 湖北中医杂志, 2013, 35(4): 50-51.

[5] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草（第一册）[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 398-403.

[6] 王晓烨, 林瑞超, 董世芬, 等. 含汞矿物药的毒性研究进展[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(7): 1258-1264.

[7] 刘圣金, 乔婷婷, 林瑞超, 等. 含矿物药外用制剂的临床应用研究进展[J]. 中成药, 2016, 38(8): 1797-1804.

[8] 南京中医药大学. 中药大辞典[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2014: 1197-1198.

[9] 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: 154-254.

[10] 杨荣艳, 白 岩, 李佰军. 薄板烧烫伤膏中氯化亚汞（轻粉）的含量测定[J]. 中国药师, 2008, 11(6): 721-722.

[11] 赵 静, 杜玉枝, 魏立新, 等. 藏药佐太中汞在小鼠体内的蓄积[J]. 中成药, 2017, 39(7): 1351-1355.

[12] 路艳丽, 贺 蓉, 彭 博, 等. 拔毒生肌散中配伍药味对汞、铅成分毒性的影响[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(15): 2118-2123.

[13] Bridges C C, Zalups R K. Transport of inorganic mercury and methylmercury in target tissues and organs [J]. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev*, 2010, 13(5): 385-410.

[14] Mohan S B, Ondrej S, Kalina J, *et al.* An overview of worldwide and regional time trends in total mercury levels in human blood and breast milk from 1966 to 2015 and their associations with health effects[J]. *Environ Int*, 2019, 125: 300-319.

[15] Street R A. Heavy metals in medicinal plant products-An African perspective[J]. *S Afr J Bot*, 2012, 82: 67-74.

[16] WS-10123 (ZD-0123) -2002-2012Z-2016, 拔毒生肌散[S].

[17] 邱 恒, 王 旗. 中药轻粉临床外用的风险评估[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(14): 2706-2710.

[18] 白学让. 红粉和轻粉的矿物学研究[J]. 中国药学杂志, 1994, 29(2): 86-88.