

磐龙玉及磐龙墨玉的矿物元素分析及磐龙墨玉提取物肿瘤细胞毒活性初探

王 力¹, 刘梦璠^{1#}, 郑昌武^{1*}, 席志超^{1*}, 张 彤²

(1. 上海中医药大学中药学院, 上海 201203; 2. 上海中医药大学教学实验中心, 上海 201203)

摘要: **目的** 分析磐龙玉及磐龙墨玉中所含的微量元素, 测定磐龙墨玉不同溶剂提取物的肿瘤细胞毒活性。**方法** 采用微波消解-电感耦合等离子体质谱法结合外标标准曲线对微量元素进行含量测定; 使用 MTT 法测定磐龙墨玉甲醇、乙醇和水提取物的肿瘤细胞毒活性。**结果** 磐龙玉和磐龙墨玉含 Li、As、B、Ba、Cr、Se、Cu、Mo、Ni、P、Pb、Cd、Sn、Sr、V、Zn、Zr 等多种矿物元素, 二者所含元素类别差异不大; 磐龙墨玉的甲醇、乙醇和水提取物对多种肿瘤细胞株表现出了一定的细胞毒活性, 其中对黑色素瘤细胞 B16F10 和 A375 的细胞毒活性最强。**结论** 磐龙玉和磐龙墨玉中含有丰富的矿物元素, 包括 Se、Sr、V、Zn 等多种与人体生理功能相关的微量元素, 磐龙墨玉的提取物对肿瘤细胞株有一定的细胞毒活性。

关键词: 磐龙玉; 磐龙墨玉; ICP-MS; 微量元素分析; MTT 法; 细胞毒活性

中图分类号: R282. 76 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2021)08-2256-05

doi: 10. 3969/j. issn. 1001-1528. 2021. 08. 052

矿物药在我国应用历史悠久, 迄今为止各种典籍中有记载的矿物类药材已多达 370 余种^[1], 是我国中医药宝库中重要的组成部分之一。《山海经》是最早记载矿物药的著作, 其中记载了 60 余种矿物类药材^[2]; 2020 年版《中国药典》中, 收录 23 种矿物药^[3]。

玉石是一类天然矿物药。《神农本草经》中将玉石分为上下两部, 最早记载了玉石的药用价值为“玉是阳精之纯者, 食之以御水气。”《本草经集注》将玉石分为上中下三品, 记载玉屑, 味甘性平、无毒, 主除胃中痞、喘息、烦满, 止渴^[4]。磐龙玉因产自吉林省磐石市龙岗山脉而得名, 根据颜色和质地的不同, 该玉石又可进一步分为“磐龙墨玉”“磐龙玉”^[5]。目前已有专业的地质研究人员对其矿物学特征、结构特征、矿物成分、化学成分、地质成因等做了较为详尽的考察。磐龙玉含有多种矿物质, 如云母、石英、绿泥石及方解石等^[6]。这些矿物组成很早被祖国的古医籍收录, 积累了大量的医疗实践经验。《本草纲目》中记载, 云母石有安神镇惊、纳气坠痰、止血敛疮功效。可用于治疗心悸、失眠、眩晕、癫痫、虚喘、寒疟、久痢、金创出血、痈疽疮毒、湿疹。而白石英有温肺肾、安心神、利小便的功效。可治肺寒咳嗽、阳痿、消渴、心神不安、惊悸善忘、小便不利、黄疸、石水、风寒湿痹等症^[7]。《证类本草》中描述紫石英有镇心、安神、降逆气、暖子宫功效。可用于心悸、怔忡、惊痫、肺寒咳逆上气、女子

宫寒不孕^[8]。现代药理学研究表明雄黄、胆矾、硝石等矿物药对肿瘤细胞有较强的抑制作用^[9-11]。研究还表明云母石还可通过抑制 NF- κ B 活性, 下调炎症因子 TNF- α 表达和提高修复因子 EGF 水平等通路, 起到抑制结肠炎的作用^[12-14]。因此对磐龙(墨)玉的元素成分以及初步的肿瘤细胞毒活性研究有助于了解该类矿物的药用价值。

本研究采用微波消解-电感耦合等离子体质谱法对磐龙玉及磐龙墨中的微量元素进行含量测定^[15-17]。通过 MTT 法测定磐龙墨玉乙醇、甲醇和水提取物的细胞毒活性^[18-19], 以期探讨磐龙玉的潜在药用价值。

1 材料

1.1 仪器 Agilent 7700X 电感耦合等离子体质谱仪(美国 Agilent 公司); 全能型微波化学工作平台(上海屹尧仪器科技发展有限公司); 梅特勒 ME204/02 分析天平(瑞士梅特勒公司); G-400 智能温控电加热器(上海屹尧仪器科技发展有限公司); Master-S30UV 纯水仪(上海和泰仪器有限公司); 光学倒置显微镜(日本 OLYMPUS 公司); 二氧化碳培养箱(日本 SANYO 公司); 多功能酶标仪(美国 PerkinElmer 公司)。

1.2 试剂与药物 混标试剂标准品(包含 41 种元素, 国家有色金属及电子材料分析测试中心, 国标(北京)检验认证有限公司联合研制)。超纯水、硝酸、盐酸、氢氟酸等。RPMI-1640、DMEM 培养基(美国 Gibco 公司); 胎牛

收稿日期: 2020-08-25

作者简介: 王 力(1994—), 男, 硕士生, 从事中药药效评价与新药研发。Tel: 15664903986, E-mail: wanglinuanbing@163.com
#并列第一作者: 刘梦璠(1996—), 女, 博士生, 从事中药抗肿瘤作用及机制研究。Tel: (021) 51322301, E-mail: mengfanliush@163.com

*通信作者: 郑昌武(1982—), 男, 博士, 研究员, 从事中药化学研究。Tel: (021) 51322026, E-mail: fishzcw@hotmail.com
席志超(1987—), 女, 博士, 副研究员, 从事中药抗肿瘤作用及机制研究。Tel: (021) 51322301, E-mail: xizhichaohaerbin@163.com

血清（以色列 Biological Industries 公司）；噻唑蓝（methyl thiazolyl tetrazolium, MTT, 美国 Sigma 公司）；DMSO（美国 Sigma 公司）。人胰腺癌细胞 MIA PaCa-2、人宫颈癌细胞 HeLa、人肝癌细胞 Hep G2、人肺癌细胞 A549、人乳腺癌细胞 MDA-MB-231、小鼠黑色素瘤细胞 B16F10、人黑色素瘤细胞 A375、人食管癌细胞 Eca109 购自中国科学院细胞库，人前列腺癌细胞 LNCaP、PC-3 购自美国 ATCC 细胞库。磐龙墨玉样品 1~4 号，磐龙玉样品 5~12 号，均采自吉林省磐石市龙岗山脉（吉林省三河矿业开发有限公司）。

2 方法与结果

2.1 元素分析

2.1.1 样品消解 取样品 0.1~0.3 g，加入聚四氟乙烯消解罐中；向聚四氟乙烯的消解罐中加入 6 mL 硝酸，3 mL 盐酸，2 mL 氢氟酸，将消解罐置于消解支架上，放入微波消解仪中，消解程序见表 1。

表 1 消解程序		
升温时间/min	消解温度/℃	保持时间/min
7	室温~120	3
5	120~160	3
5	160~190	25

确认消解罐中样品已全部消解完毕；冷却至室温，取出加入 1 mL 高氯酸，将消解罐转移到智能温控电加热器，进行赶酸处理，赶酸温度 150 ℃；待消解罐中液体剩余 1 mL 左右，移出消解罐，室温冷却；待消解罐冷却后，将剩余液体转移至 50 mL 量瓶中，并用超纯水清洗消解罐 3~4 次，清洗液转移至量瓶中，用超纯水定容待测。

2.1.2 样品元素分析仪器参数 仪器工作之前，进行自动调谐、质量校正、检测器校正等设定工作参数，以灵敏度、

表 4 各元素 ICP-MS 检测结果 (mg/kg)											
元素	1	2	3	4	5	6	8	9	10	11	12
Li	9.28	15.74	15.57	6.1	—	—	—	—	—	—	—
As	26.28	31.9	12.03	5.16	21.85	61.97	26.81	19.27	59.41	109.29	3.27
B	160.88	89.34	89.97	192.2	157.49	229.68	222.65	274.1	218.66	213.98	218.01
Ba	337.68	302.26	310.23	357.29	236.62	175.45	179.13	139.17	158.68	156.79	158.48
Cr	32.43	45.29	39.61	27.16	9.96	7.08	—	28.95	26.5	18.73	5.88
Se	0.13	1.26	0.649	0.05	0.722	0.59	0.87	0.52	1.09	0.40	0.06
Cu	4.99	14.77	13.62	1.55	—	1.00	8.81	2.31	1.35	1.87	1.93
Mo	15.68	13.36	20.91	25.96	22.53	26.4	2.00	25.36	13.19	18.12	1.09
Ni	21.68	21.26	18.64	—	7.80	—	—	—	—	—	11.26
P	202.37	366.72	296.95	102.32	256.1	59.66	46.9	30.61	40.91	79.10	80.91
Pb	299.09	36.88	111.03	33.37	128.61	12.4	9.15	51.16	20.15	24.93	56.99
Cd	0.10	0.11	—	0.67	—	0.9	0.75	0.87	—	—	0.43
Sn	20.82	11.91	17.54	16.95	43.44	11.96	5.39	3.74	5.63	9.63	1970
Sr	26.02	27.6	34.63	64.02	76.41	66.62	48.8	53.63	80.1	35.5	51.16
V	91.37	96.22	99.09	37.08	6.83	2.81	4.34	4.88	6.86	5.40	3.04
Zn	24.61	44.01	79.86	219.97	—	24.5	62.28	54.72	15.58	17.69	138.58
Zr	209.82	77.23	43.1	97.88	73.6	59.73	97.44	100.55	199.97	90.94	162.3
Hg	0.030	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

检测结果表明磐龙玉和“磐龙墨玉”样品中含有多种矿物元素，与云母、石英、绿泥石的元素成分基本相同。

背景、稳定性等各项指标对仪器的工作参数进行优化，保证仪器获得最佳的灵敏度和精确的质量准确度。等离子体质谱中的干扰可分为 2 大类：“质谱干扰”和“非质谱干扰”或称“基体效应”。质谱干扰又可分为双电荷离子干扰；同量异位素重叠干扰；多原子离子干扰；难熔氧化物干扰等。ICP-MS 自动调谐的工作参数和分析过程的工作参数见表 2~3。自动调谐过程能够在一定程度上消除上述干扰。

表 2 ICP-MS 调谐主要工作参数			
条件	参数	条件	参数/V
射频功率	1.50 kW	Omega 透镜	11.2
射频匹配	1.80 V	入室	-40
运载气体	0.80 L/min	出室	-60
气体补充	0.34 L/min	电板偏差	-65
喷雾器泵	0.1	误差	-0.8
源温度	2 ℃	自定扫描仪射频	180
Omega 偏差	-110 V	自定扫描仪偏差	-170.0

表 3 ICP-MS 主要工作参数			
条件	参数	条件	参数
RF 功率	1.50 kw	雾化气体积流量	0.80 L/min
雾化器	同心雾化器	冷却气体积流量	15.0 L/min
雾化室温度	2 ℃	辅助气体积流量	0.34 L/min
采样深度	8.0 mm	蠕动泵转速	55 r/min
积分时间	0.1 s	元素分析模式	碰撞模式
重复次数	3	扫描测试	20

2.1.3 检测结果 本次检测总计 12 批样品，编号 1~4 为磐龙墨玉，编号 5~12 为磐龙玉，来源于不同矿井或同一矿井的不同深度。结果见表 4。

为便于比较分析，本实验把磐龙玉、磐龙墨玉所含元素数量值计算平均值，结果见表 5。

表 5 样品中各元素平均含量 (mg/kg)

磐龙墨玉				磐龙玉			
元素	平均含量	元素	平均含量	元素	平均含量	元素	平均含量
Li	11.67	P	242.09	Li	—	P	84.56
As	18.84	Pb	120.09	As	39.53	Pb	39.03
B	133.10	Cd	0.29	B	202.98	Cd	0.74
Ba	326.87	Sn	16.81	Ba	253.71	Sn	257.32
Cr	36.12	Sr	38.07	Cr	14.78	Sr	71.15
Se	0.52	V	80.94	Se	0.61	V	5.38
Cu	8.733	Zn	92.11	Cu	2.89	Zn	57.93
Mo	18.98	Zr	107.01	Mo	15.98	Zr	110.20
Ni	20.53	Hg	0.03	Ni	9.53	Hg	—

表 5 显示, 4 份磐龙墨玉样品中含有 Li、As、B、Ba、Cr、Se、Cu、Mo、Ni、P、Pb、Cd、Sn、Sr、V、Zn、Zr 元素, 其中一份磐龙墨玉中检测出少量的 Hg 元素 (0.03 mg/kg), 磐龙墨玉中元素平均含量由高到低依次是 Ba、P、B、Pb、Zr、Zn、V、Sr、Cr、Ni、Mo、As、Sn、Li、Cu、Se、Cd、Hg。8 份磐龙玉样品中含有 As、B、Ba、Cr、Se、Cu、Mo、Ni、P、Pb、Cd、Sn、Sr、V、Zn、Zr 元素, 其中一份样品的 Sn 元素 (1.97×10^3 mg/kg) 含量远高于其他样品。磐龙玉中元素平均含量由高到低依次是 Sn、Ba、B、Zr、P、Sr、Zn、As、Pb、Mo、Cr、Ni、V、Cu、Cd、Se。磐龙玉和磐龙墨玉二者所含元素差异不大。

为了探究磐龙玉和磐龙墨玉是否具有潜在的矿物药用价值, 本实验初步检测了其潜在的抗肿瘤活性。因二者所含元素差异不大, 选取磐龙墨玉为研究对象, 分别用甲醇、乙醇、水进行提取, 并对其提取物进行肿瘤细胞毒活性检测。

2.2 细胞毒性实验

2.2.1 样品制备 称取 150 mg 的磐龙墨玉样品 (2 号) 于 50 mL 的离心管中, 加入 5 mL 提取溶剂 (甲醇、乙醇水), 超声提取 2 h。4 000 r/min 离心 30 min, 取上清液经 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 旋干。用 1 mL 提取剂复溶于 1.5 mL EP 管中, 减压干燥。

2.2.2 MTT 法 取对数生长期细胞, 调整密度为 2×10^5 个/mL, 用含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 或 DMEM 培养基将细胞接种于 96 孔板中于 37 ℃、5% CO₂ 及饱和湿度的培养箱中培养 24 h, 待细胞贴壁后, 按照分组加入含药培养基 100 μL。共分为 7 组, DMSO 对照组、磐龙墨玉甲醇提取物组 (100 μg/μL)、磐龙墨玉乙醇提取物组 (100 μg/μL)、磐龙墨玉水提取物组 (100 μg/μL)、二氧化硒 (15 μmol/L) 和多西他赛 (1 μmol/L), 置培养箱培养 48 h。向各孔细胞中加入 10 μL 的 MTT (5 g/L), 孵育 4 h 后吸弃上清, 每孔再加入 100 μL DMSO, 振荡混匀后, 用酶标仪 (波长为 570 nm) 测定各孔 OD 值, 记录结果并计算细胞增殖率, 实验重复 3 次。细胞增殖率 = $(OD_{\text{各实验组}} - OD_{\text{空白组}}) / (OD_{\text{DMSO 对照组}} - OD_{\text{空白组}}) \times 100\%$ 。

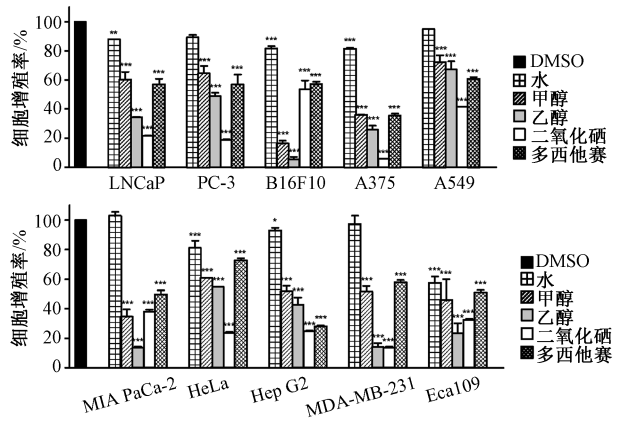
2.2.3 统计学分析 实验数据采用 Excel 2020 软件及 SPSS 2258

16.0 统计软件进行分析, 并计算肿瘤细胞生长的半数抑制浓度 IC₅₀, 用 GraphPad Prism 软件进行作图, 最终结果以平均值±标准误差的形式表示。多组间数据的比较采用单因素方差分析 (one-way ANOVA), 以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2.2.4 结果

2.2.4.1 细胞毒活性比较 为检测磐龙墨玉不同溶剂提取物对肿瘤细胞生长的抑制作用, 本实验分别在 10 种肿瘤细胞株上测定了细胞毒活性。结果见图 1, 磐龙墨玉的甲醇、乙醇提取物 (100 μg/μL) 体外作用 48 h 对人胰腺癌细胞 MIA PaCa-2、人宫颈癌细胞 HeLa、人肝癌细胞 Hep G2、人肺癌细胞 A549、人乳腺癌细胞 MDA-MB-231、小鼠黑色素瘤细胞 B16F10、人黑色素瘤细胞 A375、人食管癌细胞 Eca109、人前列腺癌细胞 LNCaP、PC-3 的细胞增殖均具有明显的抑制作用 ($P<0.001$), 且乙醇提取物的细胞毒作用强于甲醇提取物。通过进一步比较磐龙墨玉甲醇及乙醇提取物对不同细胞株增殖率的影响, 发现黑色素瘤细胞 B16F10 和 A375 对磐龙墨玉甲醇及乙醇提取物最为敏感, 表明磐龙墨玉对黑色素瘤具有一定的选择性。

水提取物的抑制作用相对较弱, 仅在 LNCaP、B16F10、A375、HeLa、Hep G2 和 Eca109 细胞上显示出较弱的肿瘤细胞毒活性。阳性对照药二氧化硒和多西他赛在不同种类的细胞中表现出不同程度的抑制作用 ($P<0.001$)。以上结果表明, 磐龙墨玉的乙醇提取物具有一定的广谱细胞毒活性, 其有效成分值得进一步探索。



注: 与对照组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ 。

图 1 磐龙墨玉提取物对不同细胞株增殖率的影响

2.2.4.2 抑制黑色素瘤细胞的增殖 进一步检测了不同浓度的磐龙墨玉甲醇和乙醇提取物对黑色素瘤细胞 B16F10 和 A375 的抑制作用, 并测定了半数抑制生长所需的浓度 (IC₅₀)。结果见图 2, 不同浓度的甲醇、乙醇提取物 (25、50、75、100 μg/μL) 作用于 B16F10 和 A375 细胞 48 h, 随着浓度的增加, 抑制作用逐渐增强。磐龙墨玉的 2 种醇提取物对黑色素瘤细胞的 IC₅₀ 值见表 6。以上实验结果表明, 磐龙墨玉的甲醇和乙醇提取物可有效地抑制黑色素瘤细胞的增殖, 且呈剂量依赖关系。

表 6 磐龙墨玉各提取物对黑色素瘤细胞的 IC₅₀ 值 ($\bar{x}\pm s$, $\mu\text{g}/\mu\text{L}$)

IC ₅₀	甲醇提取物	乙醇提取物
B16F10	63. 53±3. 10	60. 74±5. 72
A375	79. 73±1. 70	67. 95±0. 88

3 讨论与结论

本课题采用的 ICP-MS 方法，能准确分析矿物中所含元素的种类和含量，在研究矿物药的组成、元素含量及品种差异等方面应用广泛，因此是评价矿物药安全性及其质量的重要依据^[20]。采用该方法，全正香等^[21]测定了藏药南寒水石样品中的金属元素成分，其中含有大量 Ca、Si、Mg、Fe、Al、Na、K、Zn、Mn、Pb、As、Hg 等元素。胡莲^[22]比较了琥珀等 8 种矿物类中药传统饮片和其配方颗粒中微量元素 Pb、Cu、Mn、Ni、Cr、Zn、As、Sb、Cd 的含量差异，指出 Mn 元素与镇惊安神药治疗心神不宁、头晕目眩等肝阳上亢之证有关。周杰等^[23]对生龙骨、煅龙骨、生牡蛎、煅牡蛎、生石膏、滑石 6 种矿物药进行了微量元素测定，得出 6 种矿物类中药均含有人体必需微量元素 Mn 和 Zn，而滑石中含有较大量的 Mn、Ni、Cr。本研究初步对磐龙玉和磐龙墨玉进行了元素分析，磐龙玉和磐龙墨玉中含有 As、B、Ba、Cr、Se、Cu、Mo、Ni、P、Pb、Cd、Sn、Sr、V、Zn、Zr 等多种矿物元素，两者所含元素种类基本一致，所存在的差别为磐龙墨玉中还检测到含有 Li 元素，个别编号的磐龙墨玉还含有微量的 Hg 元素。磐龙玉中元素平均含量由高到低依次是 Sn、Ba、B、Zr、P、Sr、Zn、As、Pb、Mo、Cr、Ni、V、Cu、Cd、Se；而磐龙墨玉中元素平均含量由高到低依次是 Ba、P、B、Pb、Zr、Zn、V、Sr、Cr、Ni、Mo、As、Sn、Li、Cu、Se、Cd、Hg。总体来看，二者所含元素种类差异不大，但元素含量比例有所不同。磐龙玉和磐龙墨玉中所含有的 As、Cr、Se、Cu、Mo、Ni、Cd、Sn、Sr、V、Zn 等元素已被确认在人体中具有特殊的生理功能^[24]。

在元素分析的基础上，进一步的细胞实验证实磐龙墨玉的甲醇和乙醇提取物对 10 种肿瘤细胞株均具有一定的细胞毒活性，而磐龙墨玉的水提取物对肿瘤细胞的细胞毒活性较弱。其中磐龙墨玉的甲醇和乙醇提取物对黑色素瘤细胞 B16F10 和 A375 的细胞毒活性最强，可呈浓度依赖的抑制黑色素瘤细胞的生长。但提取物中究竟是何种成分在发挥作用以及这些成分抗肿瘤作用的确切机理还有待进一步研究。磐龙玉和磐龙墨玉中富含多种与人体生理功能相关的微量元素，微量元素在中药的药效及安全性方面起着重要作用^[25]。通过该研究，初步确认了磐龙墨玉具有一定的肿瘤细胞毒活性，以期在一定程度上丰富矿物药的研究类型和方法，同时为进一步研究磐龙玉和磐龙墨玉提供了科学依据。

参考文献：

[1] 李仲均. 我国本草学中记载的药用矿物史略[C] //中国地

质学会地质学史研究会. 武汉：中国地质大学出版社，1995：165-172.

[2] 王 敏. 矿产本草[M]. 北京：中国医药科技出版社，2004.

[3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：2020 年版一部[S]. 北京：中国医药科技出版社，2020.

[4] 高天爱. 矿物药及其应用[M]. 北京：中国中医药出版社，2012(11)：1-344.

[5] 王 力, 谭红胜, 张 彤, 等. 矿物药现代研究及磐龙(墨)玉的药用价值[J]. 上海中医药大学学报, 2020, 34(4)：1-6.

[6] 张启东. 吉林“磐龙玉”的宝石矿物学特征研究[D]. 北京：中国地质大学(北京)，2019.

[7] 李时珍. 本草纲目[M]. 北京：中华中医药学会，2007：361-362.

[8] 唐慎微. 证类本草[M]. 北京：中国医药科技出版社，2011：75-76.

[9] 王鹤辰, 樊佳新, 包永睿, 等. 基于灰色关联法研究胆矾中元素对 A549 细胞的体外抑制作用[J]. 中国现代应用药学, 2017, 34(11)：1522-1525.

[10] 宋玲玲, 韩冬月, 林瑞超, 等. 矿物药雄黄的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(3)：433-440.

[11] 陈祥晖, 崔琳琳, 包永睿, 等. 基于灰色关联度不同产地硝石抗肿瘤作用谱效关系研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2019, 21(4)：61-65.

[12] 钦丹萍, 杨莹莹, 邵国民, 等. 云母颗粒对大鼠乙酸性结肠炎炎症与修复反应的影响[J]. 浙江中医药大学学报, 2007, 31(5)：562-564.

[13] 蔡莎莎, 朱尤庆, 朱晓文, 等. 白云母对溃疡性结肠炎大鼠的治疗作用[J]. 中华医学杂志, 2013, 93(28)：2220-2224.

[14] 孟立娜, 方 莉, 吕 宾, 等. 云母对大鼠非甾体抗炎药相关小肠损伤的保护及对肿瘤坏死因子-α、核因子-κB 的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2010, 30(9)：961-965.

[15] 程秀花, 唐南安, 张明祖, 等. 稀有分散元素分析方法的研究进展[J]. 理化检验(化学分册), 2013, 49(6)：757-764.

[16] 杨惠兰, 易 馨, 陈 茂, 等. ICP-MS 测定四川石棉低品位碲矿中碲铋铜钴镍锑硒元素含量[J]. 矿产综合利用, 2019(1)：70-73.

[17] 张世涛, 徐艳秋, 刘晶晶, 等. ICP-MS 测定锆矿石中稀土元素[J]. 当代化工, 2016, 45(2)：426-428.

[18] Nikzad S, Hashemi B, Hassan Z M, *et al.* The cell survival of F10B16 melanoma and 4T1 breast adenocarcinoma irradiated to gamma radiation using the MTT assay based on two different calculation methods[J]. *J Biomed Phys Eng*, 2013, 3(2)：29-36.

[19] Kumar P, Nagarajan A, Uchil P D, *et al.* Analysis of cell viability by the MTT assay[J]. *Cold Spring Harb Protoc*, 2018, 2018(6)：469-471.

[20] 李 菁, 张晓博, 邹童阳, 等. ICP-MS 在矿物药质量评价中的应用研究综述[J]. 亚太传统医药, 2018, 14(1)：

90-94.

[21] 全正香, 魏立新, 杜玉枝, 等. 藏药南寒水石结构成分及热稳定性分析[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(6): 691-693.

[22] 胡 莲. ICP-MS 法比较矿物类中药在传统饮片和中药配方颗粒中微量元素的含量[J]. 北方药学, 2016, 13(11): 1-3.

[23] 周 杰, 黄群莲, 胡 莲, 等. ICP-MS 法测定 6 种矿物类

中药中微量元素含量[J]. 云南中医学院学报, 2015, 38(6): 32-35.

[24] 黄作明, 黄 珣. 微量元素与人体健康[J]. 微量元素与健康研究, 2010, 27(6): 58-62.

[25] 张秀云. 矿物药化学成分及药理研究进展[J]. 化工时刊, 2012, 26(5): 37-39.

顶空毛细管气相色谱法测定雷公藤多苷片中残留溶剂

何风艳, 何 轶, 王 峰, 王亚丹, 戴 忠*, 马双成*
(中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

摘要: **目的** 建立顶空毛细管气相色谱法测定雷公藤多苷片中甲醇、乙醇、氯仿、环己烷 4 种有机溶剂的残留量。**方法** 雷公藤多苷片 *N*、*N*-二甲基甲酰胺溶液的分析采用 DB-624 毛细管柱 (0.32 mm×30 m, 1.8 μm); 程序升温; FID 检测器。**结果** 4 种溶剂分离效果良好, 甲醇、乙醇、氯仿、环己烷在各自范围内线性关系良好 ($r>0.999\ 4$), 平均回收率分别为 104.2%、108.0%、107.3% 和 104.7%。对 10 家企业的 15 批雷公藤多苷片进行检测, 6 批样品乙醇残留量和 1 批样品氯仿残留量超出《中国药典》规定限度。**结论** 该方法简便快速, 结果可靠, 可用于雷公藤多苷片中有有机溶剂残留量的检测。

关键词: 雷公藤多苷片; 甲醇; 乙醇; 氯仿; 环己烷; 残留溶剂; 顶空毛细管色谱法

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2021)08-2260-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.08.053

雷公藤多苷片为雷公藤多苷加辅料制成的片剂, 具有抗炎及免疫抑制的作用^[1], 临床广泛用于类风湿性关节炎^[2-3]、肾病综合症^[4-6]、慢性荨麻疹^[7-8]、银屑病^[9-10]等疾病的治疗。其主药雷公藤多苷主含二萜内酯、生物碱、三萜等活性成分, 是由卫矛科雷公藤属植物雷公藤 *Tripterygium wilfordii* Hook. f. 的去皮根芯木质部加水或乙醇、氯仿提取及硅胶柱色谱分离得到的脂溶性成分混合物^[11-14]。由于雷公藤多苷制备过程中使用了多种有机溶剂, 为了评价制剂质量, 保证用药安全, 本研究参照《中国药典》相关指导原则^[14], 采用顶空毛细管柱色谱法对制剂中 4 种有机溶剂残留量进行了测定。

1 材料

7890B 气相色谱仪、7697A 顶空进样器、FID 检测器 (美国 Agilent 公司)。 *N*、*N*-二甲基甲酰胺 (色谱纯, 国药集团化学试剂有限公司); 甲醇, 环己烷 (色谱纯, 美国赛默飞世尔科技有限公司); 无水乙醇, 氯仿 (分析纯, 国药集团化学试剂有限公司)。雷公藤多苷片 15 批, 来自 10 家企业。

2 方法与结果

收稿日期: 2020-01-13

作者简介: 何风艳 (1986—), 女, 硕士, 副研究员, 从事中药质量控制研究。Tel: (010) 67095424, E-mail: hfy_198616@163.com

* 通信作者: 戴 忠 (1963—), 男, 博士, 研究员, 从事中药质量控制研究。Tel: (010) 67095268, E-mail: daizhong@nifdc.org.cn

马双成 ((1966—), 男, 博士, 研究员, 从事药物分析及中药学研究。Tel: (010) 53852076, E-mail: mase@nifdc.org.cn