

• 药剂与工艺 •

蒙药孟根乌苏中 HgS 微-纳米颗粒的提取、分离及体外溶出研究

王敏杰¹, 陈朝军², 周南², 曹群², 武世奎^{2*}

1. 内蒙古医科大学基础医学院, 内蒙古 呼和浩特 010110

2. 内蒙古医科大学药学院, 内蒙古 呼和浩特 010110

摘要: 目的 对蒙药孟根乌苏中 HgS 微-纳米颗粒的提取、分离及体外溶出进行研究。方法 采用索氏提取法去除单质硫, 确定孟根乌苏提取的最佳时间。采用差速离心法分离 HgS 颗粒; 通过控制 PVP 浓度、投料比、离心机转速等因素获得不同粒径的 HgS 微-纳米颗粒; 利用扫描电镜 (SEM) 及 X-射线衍射法 (XRD) 分析颗粒形貌和结构组成; 采用双硫脲比色法对比研究不同粒径范围的 HgS 颗粒、孟根乌苏原药材及孟根乌苏-18 味丸在模拟人工胃液、人工肠液中的溶出情况。结果 分离得到的 6 个 HgS 颗粒样品的粒径分布较均匀, 粒径分别为 2 000~4 000、800~2 000、200~800、80~200、50~80、20~50 nm。提取后样品中主要成分为 α -HgS 及 β -HgS。体外溶出结果表明, 随着 HgS 颗粒粒径变小, 汞的溶出度增大, 表明汞的溶出与 HgS 颗粒粒径大小呈反比关系。同时汞的溶出度也受硫、pH 值及复方的影响。结论 该法可简单、高效地分离 HgS 颗粒。为不同粒径 HgS 微-纳米颗粒的药学和药理学研究提供了基础。

关键词: 孟根乌苏; HgS 微-纳米颗粒; 差速离心法; 扫描电子显微镜; 提取分离; 体外溶出

中图分类号: R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)19-4513-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.19.008

Extraction, separation, and *in vitro* dissolution of HgS micro & nano-particles from Mongolian medicine Menken UsuWANG Min-jie¹, CHEN Chao-jun², ZHOU Nan², CAO Qun², WU Shi-kui²

1. School of Basic Medical Sciences, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China

2. School of Pharmacy, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China

Abstract: **Objective** To study the extraction, separation, and *in vitro* dissolution method of HgS micro & nano-particles from Mongolian medicine Menken Usu. **Methods** The Soxhlet extraction method was used to investigate the sulfur from Menken Usu effectively, and the optimum time of extraction was determined by investigating the influence of different extraction time on the extraction rate of sulfur in the Menken Usu. Then, the mercuric sulfide particles were separated by differential centrifugation. The mercuric sulfide micro & nano-particles with different particle sizes can be obtained by controlling the concentration of PVP, molar ratio, centrifuge speed, and other factors. Scanning electron microscopy (SEM) and X-ray diffraction (XRD) were used to analyze the morphology and composition of the particles. Using dithizone colorimetric method to determine and compare the dissolution of HgS particles with different sizes, Menken Usu original herbs, and Menken Usu-18 in simulated human gastric and small intestinal. **Results** The SEM results showed that the obtained six mercuric sulfide particle samples have a uniform size distribution: Uniform size were 2 000—4 000, 800—2 000, 200—800, 80—200, 50—80, and 20—50 nm. The main components in the extracted samples were α -HgS and β -HgS. As the particle size of HgS gradually became smaller, the dissolution of mercury was increased, which indicated that the size of HgS particle was inversely related to the dissolution of mercury. At the same time, the dissolution of mercury is also affected by sulfur, pH, and compounds. **Conclusion** This is a simple and efficient method for the separation of mercuric sulfide particles, and provides the basis for the pharmacokinetics and pharmacological study of mercuric sulfide nanoparticles with different particle size.

收稿日期: 2018-05-17

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81503351, 81760750)

作者简介: 王敏杰, 男, 博士研究生, 讲师, 研究方向为蒙药活性物质发现与药效学评价。Tel: (0471)6657564 E-mail: wangminjienmg@163.com

*通信作者 武世奎, 男, 博士研究生, 副教授, 研究方向为蒙药微-纳米颗粒的提取、分离、药效学及作用机制研究。

Tel: 15248060320 (0471)6653172 E-mail: shikuiwu@yahoo.com

Key words: Menken Usu; micro-nanoparticles of HgS; differential centrifugation; scanning electron microscopy; extraction and separation; *in vitro* dissolution

孟根乌苏, 又称制水银, 被广泛应用于蒙药及藏药的复方制剂中, 为蒙药常用汞的硫化物制剂, 其主要成分为 HgS 和单质硫。其性辛、寒、重、有剧毒^[1]。经炮制后孟根乌苏的毒性降低且无流动性, 对“协日乌素”病等自身免疫性疾病有着独特的疗效^[2]。复方孟根乌苏-18 味丸在自身免疫性疾病, 如类风湿性关节炎、银屑病等的治疗中有明确疗效^[3]。因此, 孟根乌苏的炮制对其药用价值的发挥有着重要意义^[4]。

近年来孟根乌苏的炮制规范、质量标准研究取得了很大进展, 但对其药效物质基础、高效低毒、复方中汞含量过高等问题尚无明确的解释。在前期研究中发现孟根乌苏中 HgS 是以微-纳米颗粒形式镶嵌于单质硫中, 形成了独特的微观结构。本研究对孟根乌苏中的微-纳米颗粒进行提取和分离, 对比研究不同粒径范围的 HgS 微-纳米颗粒、孟根乌苏原药材及孟根乌苏-18 味丸在模拟人工胃液、人工肠液中的溶出情况, 为下一步确定孟根乌苏药效物质基础及其药效学机制研究奠定实验基础。

1 仪器与材料

1.1 仪器

H1850 型台式低温高速离心机, 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司; S-3400N 型扫描电子显微镜 (SEM), 日本津岛公司; TU-1901 型双光束紫外-可见分光光度计, 北京普析通用仪器责任优先公司; KH5200DE 型数控超声波清洗器, 昆山禾创超声仪器有限公司; X 射线衍射分析 (XRD) 仪, 德国 Bruker D8 Advance 公司。

1.2 材料

孟根乌苏 (批号 20150635), 通辽内蒙古蒙药股份有限公司; 二甲苯, 天津市风船化学试剂科技有限公司; 聚乙烯吡咯烷酮 (PVP) K30, 北京国药集团化学试剂有限公司; 硝酸汞, 河北省邢台兴教化工厂; 双硫脲, 天津科密欧化学试剂有限公司; 氨水, 北京北化精细化学有限公司; 氢氧化钠、硫氰酸铵滴定液 (105.0 mmol/L), 天津永晟精细化工有限公司; 硫酸亚铁, 天津市福晨化学试剂厂。

2 方法与结果

2.1 HgS 微-纳米颗粒的收集

块状孟根乌苏粉碎过 200 目筛备用。采用索氏

提取法以二甲苯为溶剂对孟根乌苏中单质硫进行提取, 150 °C 下回流提取 4、6、8、10、12、14 h 后关闭反应装置, 以提取前后总质量之差为单质硫减少量, 计算单质硫提取率, 考察不同提取时间对单质硫提取率的影响。参照藏药“佐太”中 HgS 含量的测定方法^[5-6], 以硫氰酸铵滴定法测定提取后各样品中 HgS 含量, 确定蒙药孟根乌苏的最佳提取时间。每毫升硫氰酸铵滴定液 (105.0 mmol/L) 相当于 12.21 mg 的 HgS。

索氏提取法以二甲苯为提取溶剂对孟根乌苏原药材中单质硫进行提取, 可有效分离原药材的 2 种主要有效成分, 对药效物质基础的研究起到关键作用。对不同提取时间的孟根乌苏中单质硫提取率分析, 结果见表 1, 提取时间达 8 h, 孟根乌苏中单质硫提取率最大, 且随着时间的延长, 单质硫的提取率几乎不再减少。实验过程中, 随着提取时间的延长, 提取液颜色逐渐变黄, 说明单质硫不断被提取出来。提取时间过长, 提取液颜色由黄色渐变为红色, 可能是孟根乌苏中极小粒径的 HgS 微-纳米颗粒从滤纸内渗出导致。

硫氰酸铵滴定法操作简单, 结果准确, 为测定 HgS 含量的常用分析方法。对上述提取了不同时间的样品中的 HgS 含量进行测定, 结果见表 2。提取 8 h, 样品中 HgS 质量分数最大, 且随着提取时间的延长, HgS 的质量分数缓慢减少, 推测原因可能为提取时间过长会增加 HgS 微-纳米颗粒的损耗。

2.2 HgS 微-纳米颗粒的分离及其结构特征、成分分析

2.2.1 PVP K30 浓度的选取 以 PVP K30^[7]为介质

表 1 不同提取时间对孟根乌苏中单质硫提取率的影响

Table 1 Effects of extracted rate of elemental sulfur in Menken Usu on different extraction time

t/h	样品质量/g		S 提取量/g	S 提取率/%
	提取前	提取后		
4	3.00	2.43	0.57	18.87
6	3.00	2.19	0.81	26.94
8	3.00	2.15	0.86	28.51
10	3.19	2.37	0.81	25.55
12	3.00	2.18	0.82	27.27
14	3.00	2.20	0.80	26.77

表2 不同提取时间样品中 HgS 含量

Table 2 Measure results of HgS content in samples with different extracted time

样品量/ mg	t/h	硫氰酸铵 体积/mL	HgS 质 量/mg	HgS 质量 分数/%
50.3	4	3.43	41.8	83.10
50.5	6	3.63	44.3	87.72
50.3	8	3.88	47.3	94.03
50.4	10	3.87	47.2	93.65
50.1	12	3.76	45.9	91.61
50.3	14	3.73	45.4	90.25

溶液,与样品制成混悬液,高速离心机中不同转速下离心分离,收集离心后沉淀,达到分离不同粒径 HgS 微-纳米颗粒的目的。具体实验方法如下:称量提取 8 h 的 HgS 微-纳米颗粒分散于 25 mL 不同质量分数(1%~5%)的 PVP 溶液中,超声 30 min 使之分散,置于比色管中观察其沉降现象。

提取 8 h 的 HgS 颗粒与不同质量分数的 PVP 溶液混合静置后,观察现象如下:

①样品在 1% 的 PVP 溶液中,静置 4 h 时,底部已有红色及灰色颗粒沉淀,静置 24 h 时观察其颗粒全部沉于底部,悬浮液几乎透明,底部沉淀自下而上的颜色分别为红色、灰色、黑色,沉淀分层不明显。

②样品在 2% 的 PVP 溶液中静置 4 h 时,底部有红色及少量灰色颗粒沉淀,静置 8 h 时,红色颗粒沉淀上层蓄积有灰色沉淀,静置 24 h,底部沉淀自下而上分为 2 层,颜色分别为红色、灰色;其悬浮液自下而上的颜色分别为灰色、灰黑色,其沉淀及悬浮液均分层不明显。

③样品在 3% 的 PVP 溶液中静置 4 h 时,底部有红色沉淀聚集,静置 8 h 时,红色颗粒沉淀上层蓄积有青灰色沉淀,沉淀自下而上分为 3 层,颜色分别为红色、灰色、青灰色;其悬浮液至下而上的颜色分别为青灰色、灰黑色。但沉淀及悬浮液分层均不明显。

④样品在 4% 的 PVP 溶液中静置 4 h 时,底部有红色沉淀,静置 8 h 时,红色颗粒沉淀上层蓄积有青灰色沉淀,沉淀自下而上分为 3 层,颜色分别为红色、灰色、青灰色;其悬浮液自下而上的颜色分别为青灰色、灰黑色、黑色。其沉淀及悬浮液有明显分层。

⑤样品在 5% 的 PVP 溶液中静置 4 h 时,底部

有红色颗粒沉淀,静置 8 h 时,红色颗粒沉淀上层蓄积灰色沉淀,静置 24 h 时,底部沉淀自下而上的颜色分别为红色、灰色、青灰色;其悬浮液自下而上的颜色分别为青灰色、灰黑色、黑色;其沉淀及悬浮液分层较清晰,但其沉降速度较缓慢。

因此选择 PVP 质量分数为 4% 时,可获得较好的分离效果。

2.2.2 不同粒径 HgS 微-纳米颗粒的分离 采用差速离心法^[7],称量提取后样品 2.0 g 与 PVP 溶液制成混悬液,超声使之分散,中速定量滤纸滤过,收集滤纸上较大的颗粒,记号为“0”,同时收集滤液。滤液转移至 10 mL 离心管中,以 1 000 r/min 离心 5 min,上层悬浮液收集于一处。沉淀超声分散在同质量分数 PVP 溶液中,以相同的转速离心 5 min,并重复此操作直至悬浮液透明。将转速为 1 000 r/min 收集到的沉淀记号为“1”。1 000 r/min 离心得到的悬浮液以 3 000 r/min 的转速按上述步骤依次离心收集沉淀及悬浮液,以此类推 5 000、7 000、9 000、11 000 r/min,收集沉淀,记号分别为“2、3、4、5、6”。将各转速下收集到的沉淀以蒸馏水洗 5 次,乙醇洗 3 次后晾干,即得不同粒径 HgS 微-纳米颗粒。

对分离得到的不同粒径的 HgS 微-纳米颗粒用乙醇溶解并超声,置于比色皿中观察外观颜色,见图 1。从图 1 中可以看出,离心机转速较小时,收集到颗粒颜色偏红, α -HgS 偏多,如 1 号样品;随着离心机转速逐渐增大,样品中的黑色 β -HgS 逐渐增多,如 6 号样品接近纯黑色。

2.3 HgS 微-纳米颗粒的结构特征及组分分析

将所收集的不同粒径 HgS 微-纳米颗粒分散于 95% 乙醇中,超声使其分散,得到 1% 的悬浮液滴在硅片上,干燥后通过 SEM (S3400、S4800) 进行观测,分析颗粒形貌及粒径大小。并计算不同粒径范围 HgS 微-纳米颗粒所占比例。采用 XRD 仪(Bruker D8 Advance 40 kV)分析各样品结构组成,Cu-K α

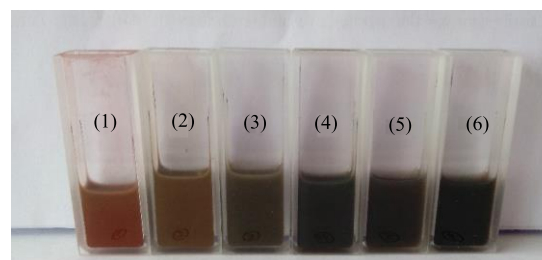


图1 1~6 HgS 样品的数码照片

Fig. 1 Digital photo of HgS sample 1—6

($\lambda=0.154\ 06\ \text{nm}$) 扫描速率为 $2^\circ/\text{min}$ 。

为了观察不同粒径的 HgS 微-纳米颗粒的形貌及粒径分布,应用 SEM 进行观察与分析,整理并统计粒径分布结果见表 3 和图 2。从结果中可以看出,高转速下获得的颗粒粒径较小,低转速下获得的颗粒粒径较大。图 2 和表 3 结果表明,HgS 颗粒粒径较大时,颜色偏红, α -HgS 偏多;颗粒粒径较小时,颜色偏黑, β -HgS 偏多。分离后的样品中,粒径大于 $4\ 000\ \text{nm}$ 的 HgS 居多,所占比例高达 62.7%,而粒径较小的 3、4 号样品在单位量的 HgS 中占约 2%;粒径最小的 5、6 号样品所占比例为 1.35%和 0.65%。这说明孟根乌苏中粒径大于 $800\ \text{nm}$

的 HgS 颗粒所占比例较大,可达 93.65%,而粒径小于 $800\ \text{nm}$ 的 HgS 颗粒仅占 6.35%。HgS 为难溶解物质,较大粒径的 HgS 颗粒在原药材中所占比重较大,势必会对孟根乌苏药效的发挥带来影响,所以对特定粒径的 HgS 颗粒的研究是确定孟根乌苏物质基础的关键。采用 XRD ($\text{Cu-K}\alpha$: $\lambda=0.154\ 06\ \text{nm}$) 对样品结构组成进行表征,结果见图 3。提取后的样品经 XRD 分析为 α -HgS 和 β -HgS。

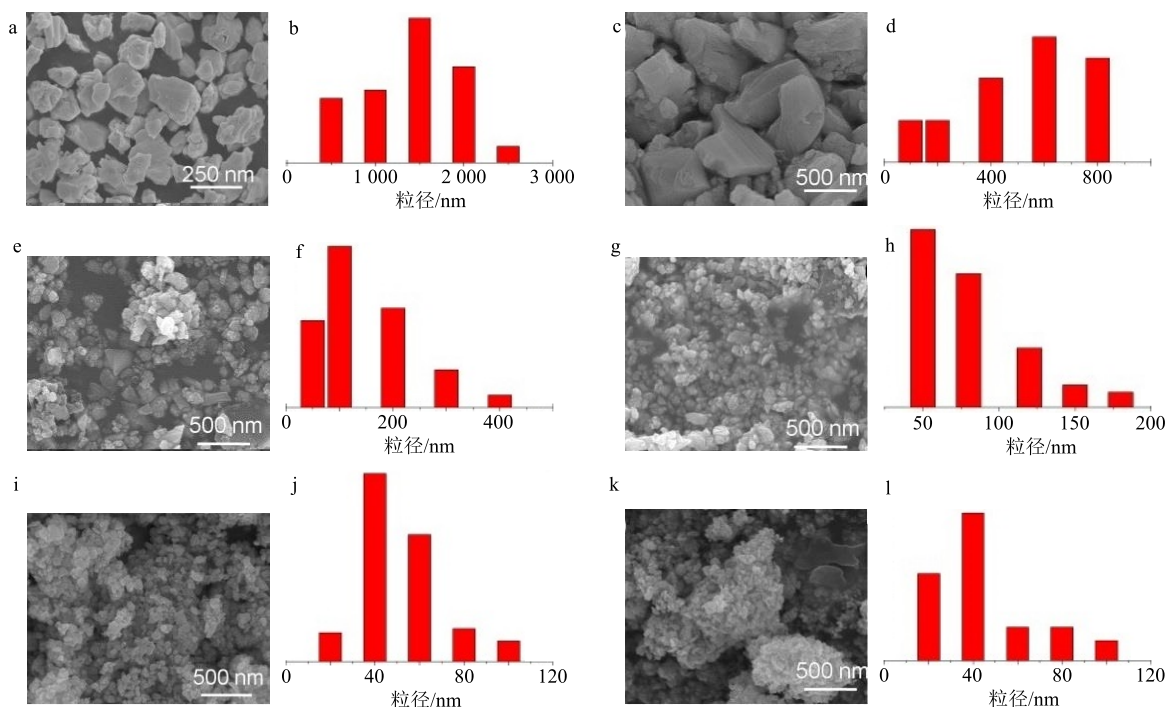
2.4 不同粒径范围的 HgS 微-纳米颗粒体外溶出研究

2.4.1 线性关系考察 分别精密量取 $1.000\ \text{mg/mL}$ 标准汞溶液 1.0 、 $0.4\ \text{mL}$ 于 100 、 $50\ \text{mL}$ 量瓶中,各

表 3 HgS 微-纳米颗粒的粒径分布

Table 3 Particle size distribution of HgS particles

编号	未分离 HgS 质量/g	分离后样品质量/g	所占比例/%	转速/($\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$)	HgS 粒径/nm
0	2.00	1.25	62.70	0	$>4\ 000$
1	2.00	0.46	22.80	1 000	$4\ 000\sim2\ 000$
2	2.00	0.16	8.15	3 000	$2\ 000\sim800$
3	2.00	0.04	2.10	5 000	$800\sim200$
4	2.00	0.05	2.25	7 000	$200\sim80$
5	2.00	0.03	1.35	9 000	$80\sim50$
6	2.00	0.01	0.65	11 000	$50\sim20$



S4800 10.0 kV 7.0 mm, 放大倍数: a-10 000; c、e、g、i、k-50 000

S4800 10.0 kV 7.0 mm, amplification: a-10 000; c、e、g、i、k-50 000

图 2 1~6 样品的 SEM 图片 (a、c、e、g、i、k) 及粒径分布图 (b、d、f、h、j、l)

Fig. 2 SEM picture (a, c, e, g, i, k) and particle size distribution (b, d, f, h, j, l) of samples 1—6

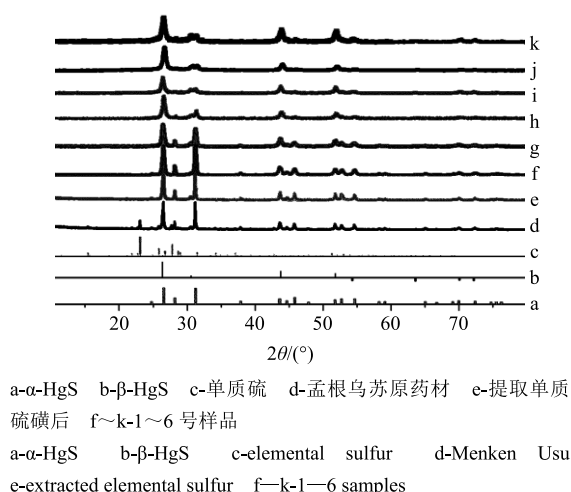


图 3 孟根乌苏原药材及提取后样品的 XRD 图谱

Fig. 3 XRD spectrum of Menken Usu and Extracted samples

自加入人工胃液/人工肠液稀释至刻度，即配制成 10、8 $\mu\text{g/mL}$ 的标准汞溶液。精密量取 10 $\mu\text{g/mL}$ 标准汞溶液 30、20、10 mL 于 50 mL 量瓶中，加入人工胃液/人工肠液稀释至刻度，配制成 6、4、2 $\mu\text{g/mL}$ 的标准汞溶液，待用。精密量取 0、2、4、6、8、10 $\mu\text{g/mL}$ 标准汞溶液 9.0 mL 于西林瓶内，浓缩定容至 2 mL，加入 5 mL 王水进行消解蒸干除酸，再向其中加入人工胃液/人工肠液 2 mL，加入 1 mL EDTA、2 mL NaOH、2 mL 双硫脲工作液，于 551 nm 处测定吸光度 (A) 值，以汞质量浓度横坐标 (X)， A 值为纵坐标，绘制标准曲线，计算汞的溶出量。测得人工胃液、人工肠液的标准曲线方程分别为 $Y=0.0296X+0.0178$ ， $r^2=0.9885$ ，线性范围 1~20 $\mu\text{g/mL}$ ； $Y=0.0488X+0.0018$ ， $r^2=0.9916$ ，线性范围 1~20 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.4.2 各样品在人工胃液、人工肠液中的溶出情况 称取 0 (>4000 nm)、1 (4000~2000 nm)、2 (2000~800 nm)、3 (800~200 nm)、4 (200~80 nm)、5 (80~50 nm)、6 (50~20 nm) 号 HgS 颗粒、孟根乌苏-18 味丸、孟根乌苏原药材 0.1 g 分别于 100 mL 锥形瓶中，加入人工胃液/人工肠液 10 mL，保鲜膜封口。参照文献方法^[8]，置于恒温振荡箱内 37.5 $^{\circ}\text{C}$ 、150 r/min 震荡 6 h，对样品进行溶出，溶出液经 0.45 μm 微孔滤膜抽滤，滤液吸取 9 mL 于西林瓶内，浓缩定容至 2 mL，加入 5 mL 王水进行消解，蒸干除酸，再向其中加入人工胃液/人工肠液 2 mL，加入 1 mL EDTA，2 mL NaOH，2 mL 双硫脲工作液，于 551 nm 处测定 A 值，计算汞的溶

出量。

结果如表 4、5 所示，各样品在人工胃液中的汞溶出量明显高于人工肠液。这表明 pH 值对 HgS 中汞的溶出起到促进作用，pH 值较小时，汞的溶出量较大。对不同粒径范围的 HgS 颗粒的溶出情况进行分析发现，随着 HgS 颗粒粒径的变小，汞的溶出量逐渐增大，充分说明了 HgS 颗粒粒径对于汞的溶出具有一定的影响，颗粒粒径越小，汞的溶出量越大。孟根乌苏原药材中的汞溶出量介于 1 和 2 之间，而复方孟根乌苏-18 味丸中汞的溶出量为 0.22 $\mu\text{g/mg}$ 明显高于孟根乌苏原药材。4 和 5 号颗粒的溶出结果已经接近复方的汞溶出量。说明复方中配伍后的孟根乌苏的颗粒粒径主要在 50~200 nm，该粒径范围内的汞具有较好的溶出量，复方孟根乌苏通过药

表 4 各样品在人工胃液中的溶出结果

Table 4 Dissolution of each sample in artificial gastric juice

编号	A 值	汞溶出质量浓度/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	汞溶出量/ $(\text{ng}\cdot\text{mg}^{-1})$
0	0.06	1.49	29.0
1	0.15	4.33	87.0
2	0.19	6.05	121.0
3	0.25	7.68	153.5
4	0.29	9.16	183.0
5	0.35	11.29	225.0
6	0.38	12.16	243.0
孟-18	0.34	10.75	215.0
孟根乌苏	0.16	4.67	93.0

表 5 各样品在人工肠液中的溶出结果

Table 5 Dissolution of each sample in artificial intestinal fluid

编号	A 值	汞溶出质量浓度/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	汞溶出量/ $(\text{ng}\cdot\text{mg}^{-1})$
0	0.01	0.21	4.2
1	0.03	0.52	10.3
2	0.10	2.05	41.1
3	0.11	2.30	46.0
4	0.21	4.23	84.5
5	0.25	5.02	100.4
6	0.26	5.35	107.0
孟-18	0.23	4.74	94.8
孟根乌苏	0.06	1.11	22.2

材配伍,使难溶性的汞的溶出量提高,对于 HgS 颗粒在治疗疾病中可能发挥重要作用。对该粒径范围内的 HgS 颗粒的深入研究可能也是确定孟根乌苏药效物质基础的关键。

2.4.3 HgS 颗粒加硫后在人工胃液、人工肠液中的溶出情况 鉴于孟根乌苏中含有一定的硫单质,在实验中也考察了单质硫对 HgS 微-纳米颗粒溶出的影响。具体实验方法同上,在已称取 0、1、2、3、4、5、6 号 HgS 颗粒的锥形瓶中各加入 0.042 g 提取单质硫,经上述方法处理后,于 551 nm 处测定 *A* 值,计算汞的溶出量。不同粒径范围的 HgS 颗粒加硫后在人工胃液、人工肠液中的溶出情况结果如表 6、7 所示。从 2 组结果的对比中同样可以看出,不同粒径范围的 HgS 颗粒在人工胃液中的溶出量明显高于人工肠液中的溶出。不同粒径范围的 HgS 颗粒,随着颗粒粒径的减小,汞的溶出量逐渐增大。且与未加硫时的溶出量比较发现, HgS 加硫后对汞的溶出起到促进作用。

表 6 HgS 颗粒加硫后在人工胃液中的溶出结果

Table 6 Dissolution of HgS particles in artificial gastric juice after sulfur addition

编号	<i>A</i> 值	汞溶出质量浓度/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	汞溶出量/($\text{ng}\cdot\text{mg}^{-1}$)
0+S	0.18	5.41	108.2
1+S	0.20	6.16	123.1
2+S	0.25	7.71	154.1
3+S	0.32	10.14	202.8
4+S	0.37	10.57	215.0
5+S	0.46	15.04	300.8
6+S	0.47	15.34	306.8

表 7 HgS 颗粒加硫后在人工肠液中的溶出结果

Table 7 Dissolution of HgS particles in artificial intestinal juice after sulfur addition

编号	<i>A</i> 值	汞溶出质量浓度/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	汞溶出量/($\text{ng}\cdot\text{mg}^{-1}$)
0+S	0.08	1.66	33.2
1+S	0.17	3.38	67.7
2+S	0.17	3.52	70.5
3+S	0.21	4.20	84.0
4+S	0.24	4.79	95.9
5+S	0.29	5.82	116.0
6+S	0.31	6.31	126.0

3 讨论

蒙药孟根乌苏是用 S 和 Hg 加热炮制而成的常用矿物药,对“协日乌素”病等自身免疫性疾病有着独特疗效,其主要成分为 HgS 和单质硫。蒙医在临床上应用已有千年之久,但由于其重金属 Hg 含量较高使其在现代临床应用中受到质疑。本实验将微-纳米颗粒分离技术与难溶矿物药研究相结合,从微观结构角度对热制孟根乌苏的物质基础进行研究。提取收集孟根乌苏中微纳米结构的 HgS 颗粒,运用先进的纳米颗粒分离技术将其分离,对分离后 HgS 颗粒的微观结构特征、体外溶出等方面进行综合评价,为其临床应用提供重要的理论和实验依据。

本研究采用索氏提取法对蒙药孟根乌苏行提取,操作简单,性质稳定,提取效率较高,但提取时间不宜过长,以 8 h 时为宜,可收集得到含量较高的 HgS 颗粒。进而用差速离心法有效地将 HgS 微-纳米颗粒按照粒径大小进行了分离,在 1 000~11 000 r/min 的离心机转速范围内,分离出 6 个粒径区间,经 SEM 观测其粒径分别为 2 000~4 000、800~2 000、200~800、80~200、50~80、20~50 nm,每个区间颗粒粒径分布几近正态分布。且离心后各样品粒径随着离心机转速的增大,颗粒粒径逐渐减小。

随着 HgS 颗粒粒径的减小, Hg 的溶出量逐渐增大。硫的加入可以促进 HgS 中汞的溶出。对比 2 种不同环境的溶出结果可知,各样品在人工胃液中的溶出量明显高于人工肠液,这表明 Hg 的溶出受 pH 值影响较大, pH 值降低时, Hg 的溶出量增大。这进一步验证了课题组的前期研究结果。随着 HgS 颗粒粒径的变小, Hg 的溶出量逐渐增大,说明了 HgS 颗粒粒径越小, Hg 的溶出量越大。根据以上结果,将溶出量相近的微纳米 HgS 颗粒 1 和 2、3 和 4、5 和 6 两两合并,分别称为 HgS 的大颗粒(800~4 000 nm)、HgS 的中颗粒(80~800 nm)和 HgS 的小颗粒(20~80 nm)。

而复方孟根乌苏-18 味丸中 Hg 的溶出量为 0.22 $\mu\text{g}/\text{mg}$,明显高于孟根乌苏原药材。4、5 号颗粒样品的溶出结果已经接近复方中 Hg 的溶出量,说明复方中配伍后的孟根乌苏的颗粒粒径大约在 50~200 nm,该粒径范围内具有较好的溶出量。复方孟根乌苏通过药材配伍后,使难溶性的汞的溶出量提高,这部分颗粒可能是其发挥治疗作用的重要成分。由此推断, HgS 颗粒粒径变小有望增加药物疗效。

在传统蒙药复方孟根乌苏-18味中, 孟根乌苏(汞)所占比例仍然较高, 这也是限制其进一步开发和推广的障碍。因此, 寻找到复方孟根乌苏中发挥关键作用的 HgS 颗粒, 确定孟根乌苏药效物质基础, 然后改进对蒙药孟根乌苏中 HgS 微-纳米颗粒的提取、分离方法和手段, 进一步提高原药材中 4、5 号颗粒的提取量, 并对此部分 HgS 微-纳米颗粒进行深入的药效学研究, 通过调节 HgS 颗粒的粒径控制汞的溶出剂量, 从而减少 HgS 在原药材中的用量, 以达到减毒增效的目的。本研究为孟根乌苏的临床应用提供了理论和数据支持, 也为未来对孟根乌苏中 HgS 纳米颗粒的药效学和毒理学进行深入研究奠定了基础。

参考文献

- [1] 占布拉道尔吉著, 格敦扎拉森译. 无误蒙药鉴 [M]. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 1988.
- [2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草·蒙药卷 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2004.
- [3] 白 萌, 乌兰巴特尔. 蒙药治疗风湿性关节炎 112 例临床分析 [J]. 中国民族医药杂志, 2003, 10(4): 10-13.
- [4] 达日茂玛仁巴, 罗布桑朝日嘎. 金光注释集 (下册) [M]. 鲁米, 朝·贡布, 却诺, 译. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 1984.
- [5] 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.
- [6] 娜 仁. 珍珠散中硫化汞的含量测定 [J]. 中国药事, 2009, 23(2): 177-178.
- [7] Qiu P H, Mao C B, Viscosity gradient as a novel mechanism for the centrifugation-based separation of nanoparticles [J]. *Adv Mater*, 2011, 23(42): 4880-4885.
- [8] 曾日中, 项秋兰, 代龙军, 等. 橡胶树大小橡胶粒子差速分步离心分离及检测方法: 中国, CN 102321197 A [P]. 2012-01-18.