

基于 HPLC-ICP-MS 的藏药佐塔汞、砷元素形态、价态分析及安全性评价

海来约布^{1,2,3}, 群培^{1,4#}, 卢君蓉⁵, 蒋敏桃⁵, 文阳^{1,2,3}, 马权^{1,2,3}, 盖荣银⁶, 李文兵^{2,3*}, 刘圆^{2,3,7*}

1. 西南民族大学药学院, 四川 成都 610225
2. 四川省羌彝药用资源保护与利用技术工程实验室, 四川 成都 610225
3. 青藏高原民族药用资源保护与利用国家民委重点实验室, 四川 成都 610225
4. 西藏甘露藏药股份有限公司, 西藏 拉萨 850000
5. 成都中医药大学, 四川 成都 611137
6. 岛津企业管理(中国)有限公司, 四川 成都 611900
7. 西南民族大学民族医药研究院, 四川 成都 610041

摘要: 目的 对藏药佐塔中汞、砷元素形态和价态进行分析, 并结合其在复方制剂中用法用量进行安全性评价, 以期佐塔临床应用提供理论依据。方法 采用高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱(HPLC-ICP-MS)法测定佐塔在人工胃肠液、砷的形态和价态, 并根据佐塔在藏药复方制剂中用法用量来计算可溶性汞、砷的摄入量。结果 9批佐塔在人工胃肠液中以无机汞(Hg^{2+})、三价砷(As^{III})和五价砷(As^{V})形式存在, 其质量分数分别为 11.25~725.13、6.68~67.53、36.06~289.03 $\mu\text{g/g}$, 未检测出甲基汞(MeHg)、乙基汞(EtHg)、砷胆碱(AsC)、砷甜菜碱(AsB)、一甲基砷(MMA)、二甲基砷(DMA)。结论 根据佐塔在藏药复方制剂最大日服量 0.2 g 计算, 可溶性 Hg、As 的摄入量分别在 2.3~145.0 μg 和 10.6~63.4 μg , 在规范使用情况下, 具有较高的临床安全性。

关键词: 藏药; 佐塔; 汞; 砷; 价态; 形态; 摄入量; 安全性评价

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)10-2985-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.10.007

Safety evaluation, elemental speciation and valence state analysis of mercury and arsenic of Tibetan medicine Zuota based on HPLC-ICP-MS

HAILAI Yue-bu^{1,2,3}, QUN Pei^{1,4}, LU Jun-rong⁵, JIANG Min-tao⁵, WEN Yang^{1,2,3}, MA Quan^{1,2,3}, GAI Rong-yin⁶, LI Wen-bing^{2,3}, LIU Yuan^{2,3,7}

1. College of Pharmacy, Southwest Minzu University, Chengdu 610225, China
2. Sichuan Qiang-Yi Medicinal Resources Protection and Utilization Technology Engineering Laboratory, Chengdu 610225, China
3. Key Laboratory of Tibetan Plateau Ethnic Medicinal Resources Protection and Utilization of National Ethnic Affairs Commission, Chengdu 610225, China
4. Tibet Ganlu Tibetan Medicine Co., Ltd., Lasa 850000, China
5. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China
6. Chengdu Shimadzu Instrument Equipment Co., Ltd., Chengdu 611900, China
7. Ethnic Medicine Institute, Southwest Minzu University, Chengdu 610041, China

Abstract: Objective To analyze the elemental speciation and valence state of mercury and arsenic in the Tibetan medicine Zuota, and evaluate its safety combining with its preparation's usage and dosage, so as to provide theoretical basis for its clinical application.

收稿日期: 2021-10-29

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFC1708005); 四川省药品监督管理局项目(510201201810173); 中央高校基本科研业务费专项资金研究类项目(2021PTJS35)

作者简介: 海来约布(1994—), 男, 彝族, 硕士研究生, 研究方向为民族药品种、质量与资源开发。E-mail: 1157820560@qq.com

*通信作者: 李文兵(1988—), 男, 博士, 副研究员, 研究方向为民族药炮制工艺及质量标准研究。Tel: 13540876731 E-mail: 285892232@qq.com

刘圆(1968—), 女, 博士生导师, 教授, 从事少数民族药物研究和教学。Tel: (028)85528812 E-mail: 499769896@qq.com

#共同第一作者: 群培(1993—), 男, 藏族, 硕士研究生, 研究方向为民族药品种、质量与资源开发。E-mail: 1679231848@qq.com

Methods The HPLC-ICP-MS method was used to detect the elemental speciation and valence state of mercury and arsenic in Zuota in artificial gastric and intestinal juice. The intake of soluble mercury and arsenic was calculated according to the usage and dosage of Zuota in its preparation. **Results** By detecting nine batches of Zuota, the result showed that the elemental speciation of mercury existed in artificial gastric and intestinal juice was inorganic mercury. The valence state of mercury was divalent mercury (Hg^{2+}), and the content of it was 11.25—725.13 $\mu\text{g/g}$. The elemental speciation of arsenic existed in artificial gastric and intestinal juice was organic arsenic. The valence state of arsenic were trivalent arsenic (AsIII) and pentavalent arsenic (AsV), and the content of them were 6.68—67.53 $\mu\text{g/g}$ and 36.06—289.03 $\mu\text{g/g}$ respectively. What's more, methylmercury (MeHg), ethylmercury (EtHg), arsenic choline (AsC), arsenic betaine (AsB), monomethyl arsenic (MMA), and dimethyl arsenic (DMA) were not detected in it. **Conclusion** The maximum daily dose of Zuota in its preparation is 0.2 g. So the intake of soluble mercury and arsenic would be calculated as 2.3—145.0 μg and 10.6—63.4 μg respectively every day. Thus, the use of Zuota in clinic would be with highly safety.

Key words: Tibetan medicine; Zuota; mercury; arsenic; elemental speciation; valence state; intake; safety evaluation

佐塔又称佐太、佐台，是以水银和硫黄为原料，辅以金、银、铁等 8 种金属与黄铜矿、银矿石、磁石等 8 种矿物及多种专用辅料炼制而成^[1]，是藏药复方制剂中重要佐剂，被誉为“藏药之母本”“藏药宝中宝”。佐塔单用具有滋补强身、延年益寿、解毒排毒和活血、补血等功效，与其他藏药合用具有增效解毒作用^[2-3]。由于佐塔制备过程中以水银为主要原料，并加入一定量的金属类和珍宝类藏药材，使其 Hg、As 等重金属及有害元素含量超标，其临床使用安全性问题一直是备受关注的焦点，也在一定程度影响了佐塔及其复方制剂的应用和推广。

现代研究表明，重金属及有害元素的毒性与其在机体内存在的化学形态密切相关^[4]。如有机 Hg 因其具有亲脂性和生物放大效应，毒性大于无机 Hg，其中生物毒性以甲基汞 (MeHg) 最大^[5]；而无机 As 由于可溶性和迁移性更高，其毒性大于有机 As，毒性由大到小依次为砷化氢 (AsH_3) > 三价砷 (As III) > 五价砷 (AsV) > 一甲基砷 (MMA) > 二甲基砷 (DMA) > 砷胆碱 (AsC) > 砷甜菜碱 (AsB) > 单质砷 (As) ^[6]。因此，模拟人体胃肠环境，对佐塔中 Hg 和 As 的形态和价态进行研究，并结合其在藏药复方制剂使用量进行安全性风险评价，可为佐塔临床应用安全性提供理论依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

LC-20Ai 型高效液相色谱仪、2030 型电感耦合等离子体质谱仪，日本岛津公司；ME204E 型电子天平，十万分之一，Mettler Toledo 公司；SHA-C 型水浴恒温摇床器，常州亿能实验仪器厂；1810A 型摩尔原子型超纯水器，上海摩勒科学仪器有限公司；KQ5200DB 型超声波清洗器，昆山市超声仪器有限公司；PHS-3C 型 PH 计，上海仪电科学仪器股份有限公司。

1.2 药物与试剂

1.2.1 试剂 胃蛋白酶 (批号 202003181)、胰酶 (批号 20203091) 购于成都艾科达化学试剂有限公司；硝酸、盐酸、磷酸二氢钾、氢氧化钠均为优级纯；乙酸铵、L-半胱氨酸、磷酸二氢铵、乙二醇四醋酸二钠均为分析纯，水为超纯水；人工胃液和人工肠液按照《中国药典》2020 年版四部通则 0921 配制。

1.2.2 标准物质 MeHg 溶液标准物质 [批号 GBW08675, (76.3 ± 2.9) $\mu\text{g/g}$]、乙基汞 (EtHg) 溶液标准物质 [批号 GBW (E) 081524, (73.8 ± 2.7) $\mu\text{g/g}$]、MMA 溶液标准物质 [批号 GBW08668, (46.2 ± 1.5) $\mu\text{g/g}$]、DMA 溶液标准物质 [批号 GBW08669, (0.706 ± 0.024) $\mu\text{mol/g}$]、AsB 溶液标准物质 [批号 GBW08670, (92.2 ± 2.7) $\mu\text{g/g}$]、AsC 溶液标准物质 [批号 GBW08671, (91.6 ± 3.7) $\mu\text{g/g}$] 均购于中国计量科学研究院；Hg 元素标准物质 (批号 GSB-04-1729-2004, 1000 $\mu\text{g/mL}$) 购于国家有色金属及电子材料分析测试中心；As 元素标准物质 (批号 BWJ4223-2016, 1000 $\mu\text{g/mL}$) 购于北京世纪奥科生物技术有限公司；AsIII (批号 158241-1, 以 As 计, 75.7 $\mu\text{g/g}$)、AsV (批号 144014-6, 以 As 计, 17.5 $\mu\text{g/g}$) 购于美国 O2Si 公司。

1.2.3 样品 不同批次佐塔样品 (编号为 ZT0901、ZT0902、ZT0903、ZT0904、ZT0905、ZT0906、ZT0907、ZT0908、ZT0909) 分别由甘孜藏族自治州藏医院、西藏自治区藏医院、甘南藏族自治州藏医院、德格县藏医院、德格县宗萨藏医院、青海省藏医院、青海久美藏医院、青海塔尔寺藏医院、阿坝藏族羌族自治州藏医院提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

2.1.1 Hg 形态 Shim-pack GIST C₁₈ 色谱柱 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm)；流动相为甲醇-0.01 mol/L 乙

酸铵溶液（含 0.12% *L*-半胱氨酸，氨水调节 pH 值至 7.5）（8：92）；体积流量 0.8 mL/min；柱温 30 ℃。在选定条件下，3 种不同形态 Hg 的分离度均大于 1.5，色谱图见图 1。

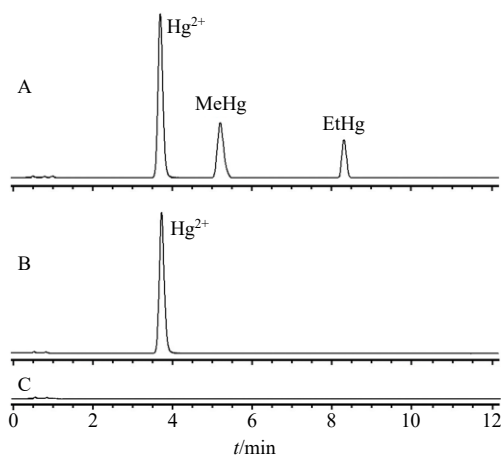


图 1 不同形态 Hg 混合溶液 (A)、佐塔样品 (B) 和空白溶液 (C) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of mix standards of mercury speciation (A), Zuota sample (B) and blank solution (C)

2.1.2 As 形态 Hamilton PRP-X100 阴离子交换色谱柱（250 mm×4.1 mm，10 μm）；流动相为 0.025 mol/L 磷酸二氢铵溶液（氨水调节 pH 值至 8.0）-水，梯度洗脱：0~15 min，100%~0 水；15~20 min，0~100%水；20~25 min，100%水；体积流量为 1.0 mL/min；柱温为 30 ℃。在选定条件下，6 种不同形态 As 的分离度均大于 1.5，色谱图见图 2。

2.2 质谱条件

高频功率 1.20 kW，高频频率 27.12 MHz，辅助气体体积流量 1.10 L/min，炬管类型 Mini 炬管，雾化室旋流，等离子体气体体积流量 9.0 L/min，载气体积

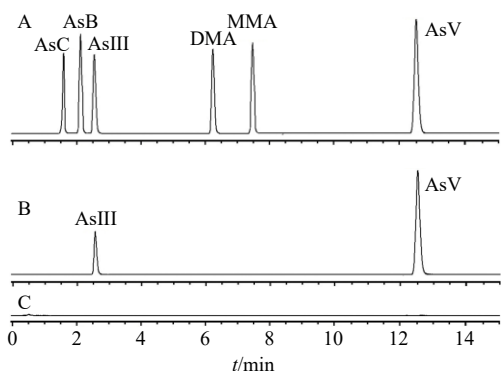


图 2 不同形态 As 混合溶液 (A)、佐塔样品 (B) 和空白溶液 (C) 的 HPLC 图

Fig. 2 HPLC of mix standards of arsenic speciation (A), Zuota sample (B) and blank solution (C)

流量 0.70 L/min，碰撞气种类 He 气，采样深度 5.0 mm，雾化室温度 0 ℃（Hg）、5 ℃（As），能量过滤器电压 5.0 V（Hg）、7.0 V（As），监测质量数 ²⁰²Hg 和 ⁷⁵As。

2.3 对照品溶液制备

2.3.1 不同形态 Hg 混合标准溶液 分别精密称取 MeHg、EtHg、Hg²⁺标准溶液适量，加 8%甲醇制成各含 0.1 μg/mL（以 Hg 计）的混合溶液，用 8%甲醇分别稀释制成 0.5、1、2、5、10、20 ng/mL（以 Hg 计）的系列溶液。同法制备空白溶液。

2.3.2 不同形态 As 混合标准溶液 分别精密称取 AsC、AsB、AsIII、DMA、MMA、AsV 标准溶液适量，加水制成各含 2.0 μg/mL（以 As 计）的混合溶液，以 0.02 mol/L 乙二醇四醋酸二钠溶液稀释成各含 1、5、10、20、50、200、500 ng/mL（以 As 计）的系列溶液。同法制备空白溶液。

2.4 供试品溶液制备

2.4.1 Hg 形态供试品溶液 取佐塔粉末约 60 mg，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加人工胃液或人工肠液 250 mL，密塞，称定质量，置 37 ℃水浴中超声处理（功率 300 W、频率 45 kHz）2 h，放冷，再称定质量，用人工胃液或人工肠液补足减失的质量，摇匀，静置 24 h，吸取中层溶液适量，滤过，精密量取续滤液 2 mL，置 10 mL 量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀，即得。

2.4.2 As 形态供试品溶液 取佐塔粉末约 0.1 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加人工肠液 250 mL，密塞，称定质量，置 37 ℃水浴中超声处理（功率 300 W、频率 45 kHz）2 h，放冷，再称定质量，用人工肠液补足减失的质量，摇匀，静置 24 h，吸取中层溶液适量，滤过，精密量取续滤液 5 mL，置 50 mL 量瓶中，加 0.02 mol/L 乙二醇四醋酸二钠溶液稀释至刻度，摇匀，即得。

2.5 线性关系及定量限考察

分别精密吸取不同质量浓度 Hg、As 混合标准溶液，精密吸取 20 μL 注入液相色谱仪，按相应色谱和质谱条件测定峰面积。以 Hg、As 各形态质量浓度为横坐标（*X*），峰面积为纵坐标（*Y*），绘制标准曲线，计算回归方程。结果表明，3 种 Hg 元素形态在 0.5~20 μg/L，6 种 As 元素形态在 1~500 μg/L 线性关系均良好，*r* 值均大于 0.999 0。采用逐级稀释法对 Hg、As 标准溶液进行稀释，以信噪比（*S/N*）为 10 时相对应质量浓度为定量限，结果 3 种形态

Hg 定量限为 0.08~0.11 $\mu\text{g/L}$; 6 种形态 As 定量限为 0.09~0.23 $\mu\text{g/L}$, 结果见表 1。

表 1 不同形态 Hg、As 线性回归方程及定量限
Table 1 Linear regression equations and limits of quantification for different speciations of mercury and arsenic

元 素	回归方程	r	线性范围/ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	定量限/ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)
MeHg	$Y=33.954X-4.227$	0.999 9	0.5~20	0.08
EtHg	$Y=32.818X+2.016$	0.999 9	0.5~20	0.11
Hg^{2+}	$Y=15.250X+0.576$	0.999 9	0.5~20	0.08
AsC	$Y=0.479X-2.310$	0.999 6	1~500	0.17
AsB	$Y=0.732X+1.078$	0.998 9	1~500	0.12
AsIII	$Y=0.536X+0.121$	0.999 9	1~500	0.23
DMA	$Y=0.618X-0.871$	0.999 9	1~500	0.09
MMA	$Y=0.734X-2.337$	0.999 9	1~500	0.20
AsV	$Y=0.840X+5.752$	0.999 3	1~500	0.18

2.6 精密度试验

分别取 1 ng/mL Hg 和 5 ng/mL As 不同形态混合标准品溶液, 在设定的 HPLC-ICP-MS 条件下, 连续进样 6 次, 以 Hg、As 各形态峰面积值计算 RSD 值。结果表明, Hg、As 各形态峰面积的 RSD 分别为 1.92%、2.15%, 均小于 3%, 结果表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验

取佐塔样品 (批号 ZT0901), 分别按“2.4”项方法制备供试品溶液, 并于制备后 0、2、4、8、12 h 测定 Hg (人工胃液) 和 As 不同形态含量。结果表明, 不同时间点 Hg^{2+} 、AsIII、AsV 质量分数 RSD 分别为 1.07%、2.23%、1.97%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.8 重复性试验

取佐塔样品 (批号 ZT0901) 6 份, 分别按“2.4”项方法制备供试品溶液, 按上述色谱和质谱条件分别测定 Hg (人工胃液) 和 As 不同形态含量。结果表明 Hg^{2+} 、AsIII、AsV 质量分数均值分别为 147.65、10.55、42.30 $\mu\text{g/g}$, RSD 分别为 3.18%、4.07%、4.33%, 均小于 5%, 说明重复性良好。

2.9 加样回收率试验

取重复性实验佐塔样品 (批号 ZT0901) 适量, 分别取 30 mg 和 50 mg, 各 6 份, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 分别加入 5.00 $\mu\text{g/mL}$ 的 Hg 元素标准

溶液、0.50 $\mu\text{g/mL}$ 的 AsIII 标准溶液和 2.00 $\mu\text{g/mL}$ 的 AsV 标准溶液各 1 mL, 按“2.4”项方法制备供试品溶液, 按上述色谱和质谱条件分别测定 Hg 和 As 不同形态含量, 计算加样回收率。结果表明, Hg^{2+} 加样回收率在 88.26%~95.74%, RSD 为 3.13%; AsIII 加样回收率在 82.68%~98.59%, RSD 为 6.36%; AsV 加样回收率在 82.27%~93.75%, RSD 为 5.04%。

2.10 汞、砷形态及价态分析

取佐塔粉末适量, 精密称定, 按照“2.4”项下方法制备供试品溶液, 按上述色谱和质谱条件分别测定 Hg 和 As 不同形态及价态含量。结果表明, 9 批佐塔样品在以人工肠液为溶媒时, Hg^{2+} 质量分数为 0.19~8.75 $\mu\text{g/g}$, 以人工胃液为提取溶媒时, Hg^{2+} 质量分数为 10.77~724.86 $\mu\text{g/g}$, 总量在 11.25~725.13 $\mu\text{g/g}$, 均未检出 MeHg 和 EtHg; 9 批佐塔样品在以人工肠液为提取溶媒时, AsIII 和 AsV 质量分数分别在 6.68~67.53 $\mu\text{g/g}$ 和 36.06~289.03 $\mu\text{g/g}$, 总量在 52.85~317.13 $\mu\text{g/g}$, 均未检出 AsC、AsB、DMA、MMA, 不同形态 Hg 测定结果见表 2, As 测定结果见表 3。

2.11 佐塔安全性评价

佐塔在藏医临床使用过程中常与诸药相配, 起到增强疗效, 降低毒性的作用。对藏医临床以佐塔为辅剂的藏药制剂的调研发现, 不同制剂中佐塔加入量不尽相同, 根据其用法用量可得出不同藏药制剂中佐塔日服量在 0.007~0.192 g, 结果见表 4。根据 9 批佐塔样品在以人工胃肠液为溶媒提取可溶性 Hg 和 As 总量 (表 2、3), 并按佐塔最大日服剂量 0.2 g 推算机体通过胃肠摄入可溶性 Hg 和 As 的量分别在 0.002~0.145 mg 和 0.011~0.063 mg, 均值分别为 0.057 mg 和 0.027 mg (表 5)。与世界粮食及农业组织和世界卫生组织建议的 Hg 和 As 的每日允许摄入量 (allowable daily intake, ADI) 值 0.043 mg 和 0.12~0.13 mg 相比, 9 批佐塔样品可溶性 As 含量低于 ADI 值; 可溶性 Hg 除 ZT0903、ZT0905、ZT0907、ZT0908 等批次外, 其余均低于 ADI 值, 说明不同藏医院生产佐塔质量差异较大。

3 讨论

本实验模拟人体胃肠环境研究佐塔中 Hg、As 形态及价态, 以期为其临床用药安全性提供数据支撑。供试品溶液的制备方法参照《中国药典》2020 年版四部通则 2322 汞、砷元素形态及价态测定法^[13]进行, 并在此基础上对供试品溶液的制备方法进行

表 2 佐塔中不同形态 Hg 含量测定结果 ($n = 3$)

Table 2 Content of mercury speciation in different batches of Zuota ($n = 3$)

批号	MeHg/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)		EtHg/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)		Hg ²⁺ /($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)		总量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
	人工肠液	人工胃液	人工肠液	人工胃液	人工肠液	人工胃液	
ZT0901	—	—	—	—	0.24	147.65	147.89
ZT0902	—	—	—	—	0.19	20.65	20.84
ZT0903	—	—	—	—	8.75	687.10	695.85
ZT0904	—	—	—	—	0.27	18.46	18.73
ZT0905	—	—	—	—	0.39	666.98	667.37
ZT0906	—	—	—	—	0.46	40.82	41.28
ZT0907	—	—	—	—	0.41	241.70	242.10
ZT0908	—	—	—	—	0.27	724.86	725.13
ZT0909	—	—	—	—	0.48	10.77	11.25
平均值	—	—	—	—	1.27	284.33	285.60

“—” 未检出, 下表同

“—” not detected, same as below

表 3 佐塔中不同形态 As 含量测定结果 ($n = 3$)

Table 3 Content of arsenic speciation in different batches of Zuota ($n = 3$)

批号	人工肠液/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)						总量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)		批号	人工肠液/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)						总量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
	AsC	AsB	AsIII	DMA	MMA	AsV				AsC	AsB	AsIII	DMA	MMA	AsV	
ZT0901	—	—	10.55	—	—	42.30	52.85		ZT0906	—	—	20.18	—	—	88.51	108.69
ZT0902	—	—	67.53	—	—	36.06	103.59		ZT0907	—	—	50.38	—	—	144.79	195.17
ZT0903	—	—	28.10	—	—	289.03	317.13		ZT0908	—	—	8.37	—	—	68.07	76.44
ZT0904	—	—	15.39	—	—	163.82	179.21		ZT0909	—	—	6.68	—	—	112.40	119.08
ZT0905	—	—	8.63	—	—	67.98	76.61		平均值	—	—	23.98	—	—	112.55	136.53

表 4 含佐塔藏药制剂规格及用法用量情况

Table 4 Specifications, usage and dosage of Tibetan medicine preparations containing Zuota

编号	制剂名称	规格	用法用量	每丸(粒)含佐塔量/g	佐塔最大日服量/g
1	十八味欧曲珍宝丸 ^[7]	0.4 g/丸	1 次 3 丸, 2 次/d	0.008	0.048
2	坐珠达西 ^[7-8]	1 g/丸	1 次 1 丸, 每 2~3 日 1 丸	0.019	0.019
3	仁青芒觉 ^[8-9]	1~1.5 g/丸	1 次 1 丸, 1 次/d	0.024~0.036	0.036
4	仁青常觉 ^[8-9]	0.25~1 g/丸	重病 1 g/d, 一般 3~7 d 或 7~10 d 1 g	0.011~0.042	0.042
5	七十味珍珠丸 ^[8-9]	1 g/30 丸或 1 g/丸	重病 1 g/d, 每隔 3~7 d 1 g	0.000 2~0.007 0	0.007
6	三十一味松石丸 ^[10]	1 g/丸	1 次 1 丸, 2 次/d	0.013	0.026
7	七十味松石丸 ^[10]	1 g/丸	1 次 1 丸, 2 次/d	0.015	0.030
8	十三味疏肝胶囊 ^[10]	0.3 g/粒	1 次 2 粒, 4 次/d	0.006	0.048
9	四十二味疏肝胶囊 ^[10]	0.3 g/粒	1 次 2 粒, 4 次/d	0.024	0.192
10	香菊活血丸 ^[11]	1 g/丸	1 次 1 丸, 1 次/d	0.025	0.025
11	珍宝解毒胶囊 ^[12]	0.3 g/粒	1 次 3 粒, 2 次/d	0.009	0.054

优化, 考察了超声提取和震荡提取 2 种方法, 对提取时间、静置时间进行筛选, 结果表明以 37 ℃ 水浴中超声处理 2 h, 静置 24 h 效果最佳。

9 批佐塔中 As 元素均以 AsIII 和 AsV 形式存在, 总量在 52.85~317.13 $\mu\text{g/g}$, 按佐塔最大日服剂量 0.2 g 推算机体摄入可溶性 As 的量为 0.011~

表 5 含佐塔制剂每日 Hg、As 最大摄入量

Table 5 Maximum daily intake of Hg and As in Zota preparation

编号	最大剂量/(g·d ⁻¹)	可溶性 Hg/μg	可溶性 As/μg
ZT0901	0.20	29.6	10.6
ZT0902		4.2	20.7
ZT0903		139.2	63.4
ZT0904		3.7	35.8
ZT0905		133.5	15.3
ZT0906		8.3	21.7
ZT0907		48.4	39.0
ZT0908		145.0	15.3
ZT0909		2.3	23.8
平均值		57.1	27.3

0.063 mg, 低于 FAO 和 WHO 建议的 As 元素 ADI 值; Hg 元素以毒性较小的无机汞 (Hg²⁺) 形式存在, 未检出毒性较大的有机汞 (MeHg 和 EtHg), 虽部分批次可溶性 Hg 量略超 ADI 值, 但结合课题组前期研究结果及佐塔毒理研究的有关报道^[14-16], 佐塔仅在超剂量或长期用药 (30 d 以上) 时, Hg 才在动物主要脏器内蓄积, 但均未表现出明显的不良反应。在藏医临床, 佐塔一般以佐剂的形式在复方中用于治疗中风、麻痹病、高血压、神经系统^[17]等疾病, 其临床用药周期最长为 1 个月^[18]。因此, 在藏医临床指导下规范使用佐塔, 具有较高的安全性。

不同批次佐塔样品在人工胃液中 Hg²⁺ 含量 (10.77~724.86 μg/g) 远高于人工肠液含量 (0.19~8.75 μg/g), 这主要与佐塔主要成分为 HgS 有关。在酸性条件下, HgS 可部分被转化为可溶性 Hg²⁺, 而在碱性条件下, HgS 较为稳定, 从而导致人工胃液中 Hg²⁺ 的含量远高于人工肠液。佐塔是以剧毒水银为原料, 炮制过程中需经复杂的水银洗炼法祛污祛毒后才能达到降低毒性的作用, 其中湿法洗炼是用童子尿等液体辅料反复洗炼水银, 以除去其中可溶性 Hg 盐, 如 Hg(SCN)₂、Hg(NO₃)₂ 等^[19]。由于不同藏医院水银洗炼工序所有辅料、洗炼顺序和次数等不尽相同, 使可溶性 Hg 盐祛除程度不一, 从而导致不同藏医院炮制佐塔可溶性 Hg²⁺ 差异较大。因此, 在佐塔炮制工艺高度保密的情况下, 通过测定其人工胃肠液中 Hg²⁺ 含量, 可作为评价佐塔炮制工

艺的是否规范合理的标准之一。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 四川省藏药材标准 (2020 年版) [S]. 2021: 147-152.
- [2] 宇妥·元丹贡布等著. 马世林等译注. 四部医典 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1987: 10.
- [3] 李文兵, 群培, 蔡晓霞, 等. 基于质量守恒定律的藏药佐塔质量控制研究 [J]. 中草药, 2021, 52(6): 1608-1613.
- [4] 韩旭, 骆骄阳, 刘秋桃, 等. 矿物药中重金属与有害元素的形态及价态研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(23): 4552-4559.
- [5] 刘平年, 王珍. GC-MS 法测定水体中甲基汞和乙基汞 [J]. 化学分析计量, 2013, 22(5): 41-43.
- [6] 骆骄阳, 刘好, 谷善勇, 等. 31 种动物药中汞、砷元素形态残留分析与限量标准探讨 [J]. 药学学报, 2018, 53(11): 1879-1886.
- [7] 卫生部药品标准: 藏药第一册 [S]. 1995: 318.
- [8] 索郎顿珠. 藏药配伍要诀 藏文 [M]. 北京: 民族出版社, 2000: 5.
- [9] 措如才郎. 四部医典大详解 5 (藏文) [M]. 成都: 四川民族出版社, 2001: 10.
- [10] 国家中成药标准汇编: 内科肝胆分册 [S]. 2002: 214, 242, 270, 283.
- [11] 国家中成药标准汇编: 脑系经络肢体分册 [S]. 2002: 54.
- [12] 国家中成药标准汇编: 内科气血津液分册 [S]. 2002: 197.
- [13] 中国药典 [S]. 四部. 2020: 236-237.
- [14] 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.
- [15] 朱洪梅, 魏立新, 杜玉枝, 等. 藏药佐太长期给药对小鼠毒性的初步研究 [J]. 时珍国医国药, 2013, 24(8): 2022-2024.
- [16] 张炜, 刘海青, 骆桂法, 等. 佐太及珍宝类藏成药中汞在大鼠体内的蓄积研究 [J]. 中国药事, 2020, 34(2): 195-201.
- [17] 曾勇, 何毓敏, 刘颖, 等. 藏药“佐塔”对中枢神经系统的部分药理作用研究 [J]. 四川中医, 2005, 23(11): 36-37.
- [18] 李岑, 王东平, 多杰, 等. 藏药佐太安全性研究及其复方当佐的临床安全观察初探 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(13): 2573-2582.
- [19] 班玛才仁. 用化学思路浅谈藏药“佐太”炮制工艺 [J]. 中国民族医药杂志, 2013, 19(7): 62-64.

[责任编辑 郑礼胜]