

藏药佐太的粉末 X 射线衍射指纹图谱及微观结构形态研究

干泓侠, 冯楠, 李远飞, 顾健, 韩泳平*

西南民族大学药学院, 四川 成都 610041

摘要: 目的 建立藏药佐太的 X 射线衍射 (X-ray diffraction, XRD) 指纹图谱; 测定佐太中主要物相的成分及含量; 检测佐太的微观结构。方法 采用 XRD 法对 15 批佐太样品进行分析, 建立佐太样品的指纹图谱; 通过全谱拟合对佐太样品进行定性和定量分析; 运用扫描电子显微镜 (SEM) 分析佐太微粒的微观特征; 运用 K 值法和滴定法测定佐太中主要成分 HgS 的含量。结果 建立了佐太的 XRD 指纹图谱, 相似度均达 90% 以上。确定 9 个共有峰, 2、4~7 号共有峰为 HgS 的特征峰, 1、3 号共有峰为 S 的特征峰; 全谱拟合结果显示, 佐太中主要存在立方晶系 HgS (空间群为 F-43m 216)、六方晶系 HgS (空间群为 P3221 154) 以及斜方晶系 S₈ (空间群为 Fddd 70), 其质量分数分别为 56.87%、3.570%、39.56%; SEM 观测表明佐太的形态为松散的团簇状球状颗粒, 粒径大致为 200~800 nm。K 值法测得 15 批样品中 HgS 的总含量平均值为 56.90%, 与滴定法所测结果基本一致。结论 建立的 XRD 指纹图谱专属性较强, 可作为其质量评价的依据; K 值法的应用简易便捷、准确度高, 为佐太的含量测定提供重要方法。

关键词: 藏药; 佐太; X 射线衍射; 指纹图谱; 全谱拟合; 微观结构; K 值法; 滴定法; HgS; 立方晶系; 六方晶系; 斜方晶系; 质量评价

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)11-3321-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.11.007

Fingerprint of X-ray diffraction of Tibetan medicine Zuotai and its study on microstructure and morphology

GAN Hong-xia, FENG Nan, LI Yuan-fei, GU Jian, HAN Yong-ping

College of Pharmacy, Southwest Minzu University, Chengdu 610041, China

Abstract: Objective To establish the X-ray diffraction (XRD) fingerprint of Zuotai, determine the composition and content of main phases in it and detect the microstructure of these simples. **Methods** XRD was used to analyze 15 batches of Zuotai samples, and the fingerprint of Zuotai samples was established; Full spectrum fitting was used for qualitative and quantitative analysis of Zuotai samples; Scanning electron microscope (SEM) was used to analyze the micro characteristics of Zuotai particles, k-value method and titration method were used to determine the content of HgS, the main component of Zuotai. **Results** Fingerprint of Zuotai was established, and the similarity was more than 90%. There were nine common peaks, peaks 2, 4—7 were the characteristic peaks of HgS, and peaks 1 and 3 were the characteristic peaks of S. The full spectrum fitting analysis of Zuotai showed that there were mainly cubic-HgS (space group F-43m 216), hexagonal-HgS (space group P3221 154) and orthorhombic S₈ (space group Fddd 70), and their contents were 56.87%, 3.573% and 39.56% respectively; Scanning electron microscopy (SEM) showed that the morphology of Zuotai was loose cluster spherical particles, and the particles size about 200-800 nm. The average content of HgS in 15 batches of samples measured by K-value method is 56.90%. **Conclusion** The established X-ray diffraction fingerprint has strong specificity and can be used as the basis for its quality evaluation; The application of K-value method is simple, convenient and accurate, which provides an important method for the content determination of Zuotai.

Key words: Tibetan medicine; Zuotai; X-ray diffraction; fingerprint; full spectrum fitting; microstructure; K-value method; titration method; HgS; cubic crystal system; hexagonal system; orthorhombic system; quality evaluation

收稿日期: 2021-12-29

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82174083); 西南民族大学中央高校基本科研业务费专项资金项目资助 (ZYN2022039)

作者简介: 干泓侠 (1998—), 女, 硕士研究生, 研究方向为药物化学。E-mail: 1363410793@qq.com

*通信作者: 韩泳平, 男, 教授, 硕士生导师。Tel: (028)85522315 E-mail: 1805563735@qq.com

藏药佐太是藏医药中重要的佐辅剂，是水银经过特殊炮制去毒去垢后加入多种辅助药物制成的黑色粉末，具有调血、生肌健脾、滋补强身的功效^[1]。最新研究表明，其还具有解热镇痛、中枢抑制及增强免疫的作用^[2-3]。佐太起效形式可能与其微观结构特点有关。有研究表明，佐太在实验动物体内和体外细胞内以纳米颗粒形式发挥作用^[4]。

佐太是将水银经过洗炼、煮炼等过程祛污除毒后，加入硫黄、八金八矿灰炮制而成^[5]，其主要成分为 HgS 和单质 S^[6-8]。佐太炮制工艺极为复杂，需经历煅灰、洗炼、煎煮等多种工序，加入上百种辅料，历时 40 余天才能完成^[9-10]，具有辅料复杂，炮制工艺繁琐，保密性强等特点^[11]。李文兵等^[12]通过 HPLC 测定了单质 S 的含量，采用硫氰酸铵滴定法测定 Hg 含量继而推算 HgS 的含量，并采用 X 射线衍射 (X ray diffraction, XRD) 的方法确定了单质 S 的构型。王维恩^[13]通过对单一来源样品的 XRD 衍射分析确定了代表主要成分的特征谱线，认为其可以作为建立指纹图谱的依据。目前对于佐太成分、含量的研究还比较少，而且所用方法存在着操作繁琐、误差大、准确度低等问题^[14-15]。本实验在直接采用 XRD 分析法建立指纹图谱的基础上，通过全谱拟合分析确定其主要成分及其构型、形态、以及单质 S 和 HgS 的含量。本方法属无损分析，干扰小，简便快速，准确度高，具有较高的实际应用价值。

1 仪器与试剂

Mettler Toledo AE240 十万分之一电子分析天平，梅特勒-托利多仪器有限公司；D/max-2500/PC 型转靶 X 射线粉末衍射仪，日本理学公司；Zeissmerlin Compact 型扫描电子显微镜；220V-AC 型电炉，天津天奉仪器有限公司；滴定管，酸式滴定管。

碳酸钙，成都市科隆化工试剂厂，批号 180719；硝酸钾（批号 180910）、高锰酸钾（批号 181025）、硫酸铁铵（批号 180120），成都埃法生物科技有限公司；浓硫酸，中科化学有限公司，批号 171210；硫氰酸铵，中科试剂有限公司，批号 170722；硫酸亚铁，阿拉丁试剂有限公司，批号 190712；3 批朱砂炮制品购自成都市荷花池药材市场，产地为湖南、贵州、广西，经西南民族大学李莹博士鉴定为正品 [即为硫化物类矿物辰砂辰砂，主含硫化汞 (HgS)]，符合《中国药典》2020 年版一部项下规定^[16]，留样保存于西南民族大学中药鉴定实验室。

15 批佐太样品，来源分别为批号 ZT0601、

ZT0602、ZT0603、ZT0604（编号 S1~S4）购自西藏藏医药大学（原西藏藏医学院），批号 ZT0605、ZT0606、ZT0607（编号 S5~S7）购自西藏自治区藏医院，批号 ZT0608、ZT0609、ZT0610（编号 S8~S10）购自甘孜藏族自治州藏医院，批号 ZT0611、ZT0612、ZT0613、ZT0614、ZT0615（编号 S11~S15）购自阿坝藏族羌族自治州藏医院。

2 方法与结果

2.1 佐太的 XRD 指纹图谱分析研究

2.1.1 仪器工作条件与样品处理 X 射线粉末衍射仪：Cu 靶 K α 辐射；管压 36 kV，管流 20 mA，发射狭缝 DS=1 $^\circ$ ，防散狭缝 SS=1 $^\circ$ ，接收狭缝 RS=0.3 mm；石墨弯晶单色器，扫描速度 4 $^\circ$ /min，连续扫描，扫描范围 20 $^\circ$ ~80 $^\circ$ (2 θ)，步长 0.02 $^\circ$ 。

依次取 15 批次的佐太粉末样品适量，经玛瑙研钵研磨至细腻，用于 XRD 分析。

2.1.2 XRD 指纹图谱的建立 称取处理好的佐太样品适量，按照“2.1.1”项下条件依次对样品进行粉末 XRD 实验。应用 Jade 6.5 软件对佐太样品的 XRD 图谱进行数据处理，包括平滑曲线、背景扣除、寻峰、晶型分析以及 PDF 标准卡片匹配等^[17]。应用 Origin 8.5 绘图软件对得到的图谱分别进行叠加处理，得到了 15 批佐太样品的 XRD 指纹图谱，结果见图 1。应用 Matlab 8.0 软件将 15 个样品的 XRD 指纹图谱进行叠加处理，通过中位数法和平均数法，建立佐太样品的平均数指纹图谱和中位数指纹图谱，结果见图 2。通过与计算机内的 PDF 标准卡片进行匹配，佐太 XRD 指纹图谱中，2、4~7 号峰表现为 HgS (PDF 标准卡片号为 75-1538)；1、3 号峰表现为 S (PDF 卡片号为 99-0066)，匹配结果见图 3。

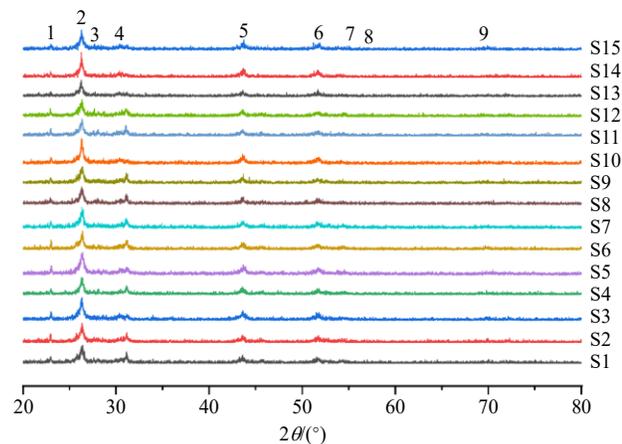


图 1 15 批佐太样品的 XRD 指纹图谱

Fig. 1 Spectrum of 15 batches Zuotai by XRD

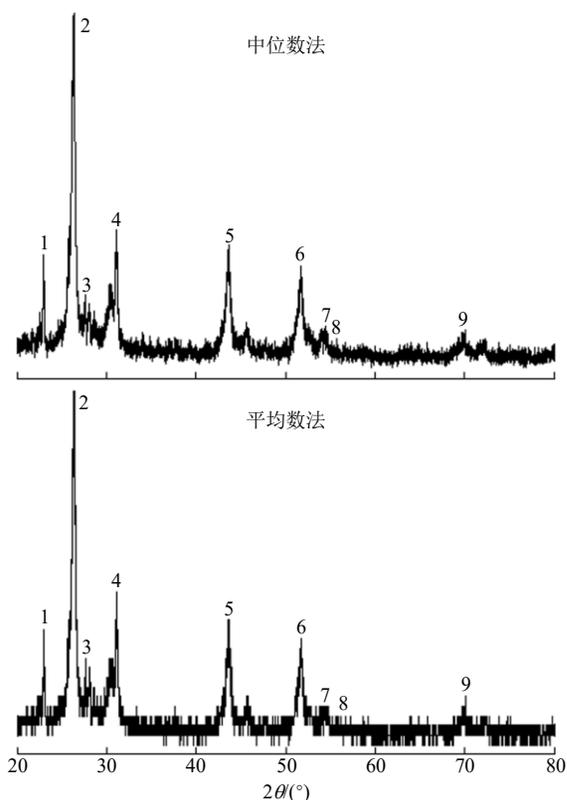


图1 佐太样品 XRD 对照图谱

Fig. 1 XRD comparison spectrum of Zuotai sample

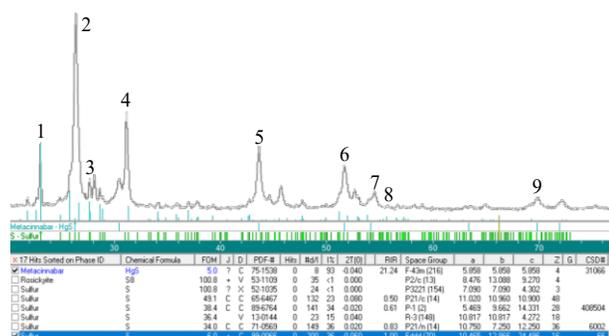


图3 佐太中主要成分 HgS 和 S 与 PDF 标准卡片匹配结果
Fig. 3 Matching results of main components HgS and S in Zuotai with PDF standard card

2.1.3 图谱色谱峰的标定 寻峰条件为峰宽 1.00, 峰高 2.0, 最小峰高 1.5。由布拉格公式 $2d\sin\theta = n\lambda$, 其中 $n=1$, $\lambda=0.15428\text{ nm}$, 求得晶格间距 (d), I 为峰高, I/I_0 为衍射相对强度^[18-19]。寻峰结果见表 1。

2.1.4 共有峰的寻峰 应用 Jade 6.5 软件, 在相同的条件下进行寻峰, 经过比较选择了其中衍射强度相对较大的 9 个共有峰。通过对数据的处理, 得到了各个共有峰的 2θ 、 d 值和 I/I_0 值, 结果见表 2。

2.1.5 相似度分析 应用 Matlab 8.0 软件, 运用相

表 1 佐太样品的色谱峰峰位 (2θ) 及晶格间距 (d)

Table 1 Chromatographic peak position of Zuotai sample (2θ) and lattice spacing (d)

峰号	参数	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15
1	$2\theta(^{\circ})$	20.81	20.16	20.74	21.14	20.55	20.61	21.84	20.41	21.23	20.88	20.66	20.72	21.68	22.54	22.34
	d/nm	0.425 89	0.440 11	0.427 70	0.419 90	0.431 84	0.430 80	0.406 99	0.433 91	0.418 70	0.424 88	0.429 31	0.226 91	0.409 54	0.393 63	0.397 64
2	$2\theta(^{\circ})$	22.69	22.64	21.92	22.50	22.52	22.61	22.66	20.86	22.49	21.67	22.53	20.60	22.92	22.97	22.60
	d/nm	0.392 62	0.392 94	0.405 32	0.393 96	0.393 25	0.392 39	0.392 26	0.425 08	0.395 34	0.409 58	0.393 45	0.392 94	0.386 69	0.386 69	0.392 25
3	$2\theta(^{\circ})$	22.96	22.95	23.00	22.99	23.03	23.02	23.00	22.92	22.95	23.02	22.97	22.93	23.68	25.45	22.97
	d/nm	0.386 86	0.387 02	0.386 36	0.386 52	0.385 37	0.386 03	0.386 19	0.387 02	0.386 70	0.386 19	0.387 02	0.386 54	0.375 75	0.349 96	0.386 70
4	$2\theta(^{\circ})$	25.26	24.99	25.31	25.35	23.40	25.18	23.81	25.26	23.76	23.49	25.13	24.67	25.19	26.26	24.26
	d/nm	0.352 27	0.356 14	0.351 60	0.350 91	0.364 35	0.353 21	0.373 40	0.352 46	0.373 85	0.378 28	0.354 48	0.360 42	0.353 88	0.338 83	0.366 43
5	$2\theta(^{\circ})$	25.84	25.73	25.75	25.86	25.15	25.76	25.37	25.65	25.02	25.82	25.77	25.79	25.95	26.69	25.12
	d/nm	0.345 03	0.345 30	0.345 69	0.344 37	0.353 83	0.345 55	0.350 78	0.346 48	0.355 45	0.345 03	0.345 68	0.345 82	0.343 71	0.333 62	0.353 80
6	$2\theta(^{\circ})$	26.32	26.37	26.34	26.25	25.93	26.35	25.85	26.31	26.31	26.30	26.34	26.36	26.26	27.06	25.35
	d/nm	0.337 45	0.337 95	0.338 20	0.338 71	0.343 58	0.337 82	0.344 76	0.338 33	0.337 83	0.338 45	0.337 82	0.338 20	0.338 96	0.329 00	0.351 05
7	$2\theta(^{\circ})$	27.60	27.64	27.67	27.22	26.34	27.63	26.31	27.02	27.57	27.62	27.60	27.67	27.10	27.47	25.76
	d/nm	0.322 70	0.322 57	0.322 69	0.327 35	0.338 08	0.322 12	0.338 08	0.329 96	0.323 25	0.322 57	0.322 71	0.322 35	0.328 66	0.324 54	0.345 16
8	$2\theta(^{\circ})$	28.14	27.97	28.15	27.63	27.65	28.11	27.63	27.62	28.13	28.58	28.12	28.06	27.60	27.74	26.33
	d/nm	0.317 07	0.318 86	0.316 73	0.322 35	0.322 36	0.317 18	0.321 79	0.322 25	0.316 85	0.311 93	0.316 75	0.317 72	0.322 57	0.321 67	0.338 58
9	$2\theta(^{\circ})$	28.56	28.21	28.62	28.14	28.13	30.06	28.09	28.01	30.10	29.99	29.81	29.52	28.48	28.60	26.94
	d/nm	0.312 19	0.316 08	0.311 66	0.316 53	0.316 64	0.296 74	0.317 40	0.317 65	0.296 26	0.297 90	0.299 46	0.302 43	0.312 95	0.311 86	0.330 56
10	$2\theta(^{\circ})$	29.32	28.56	30.51	30.48	28.60	30.43	30.11	30.24	30.45	30.36	30.57	30.05	30.49	29.25	27.73
	d/nm	0.304 45	0.311 98	0.292 75	0.293 30	0.311 23	0.292 86	0.295 78	0.295 21	0.293 31	0.294 53	0.292 09	0.296 92	0.293 70	0.304 98	0.321 78

续表 1

峰号	参数	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15
11	$2\theta(^{\circ})$	30.03	30.54	31.13	30.65	28.93	31.18	30.70	30.65	31.12	30.43	31.01	30.63	30.70	30.17	30.52
	d/nm	0.297 22	0.292 76	0.286 88	0.291 44	0.307 85	0.286 61	0.290 98	0.291 35	0.286 97	0.292 94	0.287 51	0.291 64	0.290 53	0.296 26	0.292 76
12	$2\theta(^{\circ})$	30.49	30.80	33.41	31.12	30.56	35.56	31.10	31.10	33.57	31.20	34.14	31.05	33.33	30.44	31.16
	d/nm	0.293 31	0.289 79	0.267 97	0.286 89	0.292 38	0.252 17	0.287 15	0.287 07	0.266 65	0.286 09	0.262 49	0.287 43	0.268 66	0.293 70	0.286 97
13	$2\theta(^{\circ})$	31.10	30.18	35.83	34.05	31.38	37.74	35.93	34.00	35.52	35.35	35.74	35.76	35.86	30.64	34.66
	d/nm	0.286 97	0.286 79	0.250 00	0.263 00	0.285 28	0.238 22	0.249 86	0.263 32	0.252 65	0.253 76	0.250 83	0.250 83	0.250 48	0.293 70	0.258 59
14	$2\theta(^{\circ})$	35.52	35.87	37.07	35.81	35.92	42.86	37.01	35.73	42.75	37.82	37.69	36.75	43.09	31.04	43.58
	d/nm	0.252 31	0.250 47	0.242 33	0.250 47	0.249 87	0.210 92	0.242 75	0.251 15	0.211 57	0.237 61	0.238 47	0.244 35	0.290 89	0.287 78	0.207 50
15	$2\theta(^{\circ})$	42.62	37.68	43.05	37.73	38.94	43.49	43.04	37.80	43.14	39.25	38.84	42.74	43.39	31.27	43.67
	d/nm	0.211 72	0.238 48	0.209 93	0.238 16	0.230 92	0.208 00	0.209 98	0.237 37	0.209 38	0.229 34	0.231 67	0.211 23	0.208 41	0.285 90	0.207 10
16	$2\theta(^{\circ})$	42.25	42.64	43.61	43.14	42.70	43.68	43.72	38.65	43.69	43.21	43.05	43.60	43.64	35.44	47.86
	d/nm	0.208 92	0.211 91	0.207 37	0.209 56	0.211 24	0.207 23	0.206 83	0.232 93	0.207 19	0.208 97	0.209 84	0.207 06	0.207 28	0.252 95	0.189 79
17	$2\theta(^{\circ})$	43.60	43.77	43.88	43.65	43.45	44.79	45.71	40.00	45.06	43.62	43.63	44.82	42.72	43.23	50.75
	d/nm	0.207 01	0.206 87	0.206 11	0.207 19	0.208 14	0.202 26	0.198 36	0.225 16	0.201 07	0.207 06	0.207 28	0.202 05	0.202 35	0.209 24	0.179 81
18	$2\theta(^{\circ})$	44.60	45.55	51.79	45.68	45.72	51.56	51.11	41.03	51.20	46.89	45.13	45.37	50.54	43.58	51.64
	d/nm	0.202 99	0.198 80	0.176 41	0.198 77	0.198 16	0.177 07	0.178 34	0.219 85	0.178 01	0.193 68	0.200 73	0.199 73	0.180 31	0.207 55	0.176 85
19	$2\theta(^{\circ})$	45.63	48.34	52.53	47.72	51.15	51.83	51.65	42.86	51.72	51.20	45.73	45.71	51.38	43.90	54.50
	d/nm	0.198 52	0.188 09	0.173 98	0.190 42	0.178 34	0.176 28	0.176 69	0.210 87	0.176 60	0.178 07	0.198 20	0.198 03	0.177 72	0.205 95	0.168 16
20	$2\theta(^{\circ})$	51.73	51.74	54.10	51.61	51.90	52.65	51.82	43.72	52.07	51.72	51.13	51.46	51.71	47.03	57.07
	d/nm	0.176 66	0.176 38	0.169 35	0.176 95	0.175 99	0.173 61	0.176 18	0.206 92	0.175 56	0.176 57	0.178 59	0.177 43	0.176 63	0.193 14	0.161 19
21	$2\theta(^{\circ})$	54.35	54.50	54.37	51.83	53.76	54.56	52.80	45.63	52.59	51.90	51.74	51.87	51.80	51.28	60.08
	d/nm	0.168 69	0.168 15	0.168 57	0.176 13	0.170 48	0.168 09	0.172 94	0.198 57	0.173 85	0.175 87	0.176 66	0.176 15	0.176 35	0.178 10	0.153 91
22	$2\theta(^{\circ})$	56.92	56.66	56.46	54.51	54.80	56.84	54.64	51.72	53.53	54.31	54.46	52.63	52.21	51.76	61.32
	d/nm	0.161 48	0.162 24	0.162 87	0.168 03	0.167 15	0.161 77	0.167 89	0.176 44	0.162 71	0.168 57	0.168 46	0.173 72	0.174 65	0.176 44	0.151 05
23	$2\theta(^{\circ})$	62.17	58.09	69.97	55.95	56.76	61.64	56.54	54.02	54.39	55.20	56.74	54.41	54.67	54.27	63.60
	d/nm	0.149 23	0.158 78	0.134 46	0.164 23	0.162 19	0.150 32	0.162 74	0.169 40	0.168 63	0.166 21	0.162 06	0.168 40	0.167 69	0.169 06	0.146 17
24	$2\theta(^{\circ})$	66.28	69.83	72.25	56.85	65.23	69.71	65.02	54.53	56.78	56.87	58.51	56.69	57.11	56.37	69.94
	d/nm	0.140 90	0.134 60	0.130 72	0.161 84	0.142 83	0.134 75	0.143 27	0.168 00	0.162 08	0.161 93	0.157 59	0.162 26	0.161 11	0.163 06	0.134 41
25	$2\theta(^{\circ})$	69.43	72.05		64.99	69.84	71.65	69.71	56.58	64.71	65.75	61.04	59.80	62.11	63.08	70.77
	d/nm	0.135 20	0.130 96		0.143 40	0.134 59	0.131 60	0.134 78	0.162 92	0.143 85	0.141 83	0.151 67	0.154 41	0.149 23	0.147 23	0.133 03
26	$2\theta(^{\circ})$	74.01			69.82	72.51		70.57	65.20	69.92	69.63	61.56	63.11	69.83	65.91	71.98
	d/nm	0.127 98			0.134 58	0.130 23		0.133 36	0.142 85	0.134 44	0.134 88	0.150 56	0.147 17	0.134 49	0.141 46	0.131 11
27	$2\theta(^{\circ})$								69.85	71.70		69.27	69.21	65.56	68.03	73.14
	d/nm								0.134 53	0.131 50		0.135 65	0.135 56	0.142 31	0.137 71	0.129 27
28	$2\theta(^{\circ})$											69.87	69.69	71.58	69.84	
	d/nm											0.125 63	0.134 93	0.131 72	0.134 61	
29	$2\theta(^{\circ})$														72.07	
	d/nm														0.130 93	

关系数法和夹角余弦法分别计算 15 批样品之间的相似度, 结果见表 3。15 批佐太样品的平均数相关系数和中位数相关系数均在 0.900 0 以上, 平均数夹角余弦和中位数夹角余弦均在 0.910 0 以上, 可以建

立佐太的 XRD 指纹图谱。

2.1.6 聚类分析 根据表 1 中的数据, 以峰高 I 为聚类指标, 应用 SPSS 26.0 软件对 15 批佐太样品进行聚类, 聚类方法为 Ward 法, 距离类型为欧式距

表 2 15 批佐太样品共有特征峰的 2θ 、 d 与 I/I_0

Table 2 2θ , d and I/I_0 of fifteen batches of Zuotai samples common characteristic peak

共有峰	$2\theta(^{\circ})$	d/nm	I/I_0														
			S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15
1	22.98	0.386 5	41.96	44.79	38.42	35.77	43.34	62.41	32.01	37.67	36.63	36.14	45.00	46.50	29.30	25.67	36.63
2	26.32	0.338 2	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
3	27.64	0.322 4	32.52	28.53	22.63	33.08	22.66	24.81	26.35	22.00	26.74	48.19	33.21	46.50	19.41	15.98	34.07
4	30.53	0.292 7	32.52	28.53	26.32	35.77	30.03	34.96	30.03	26.67	29.30	43.98	30.71	39.51	26.74	19.37	29.30
5	43.67	0.207 1	48.95	32.52	42.11	43.46	35.69	45.11	35.69	40.00	58.61	51.81	40.36	41.96	41.39	14.53	46.15
6	51.84	0.176 4	32.52	36.81	35.00	40.77	30.03	32.33	24.36	26.67	31.50	43.98	33.21	27.97	43.96	25.67	34.07
7	54.49	0.168 2	18.53	20.25	15.79	25.38	15.01	22.56	13.03	15.33	29.30	27.71	23.57	23.08	16.85	9.69	19.41
8	56.75	0.162 1	9.09	14.11	13.95	17.69	11.33	17.29	9.35	6.67	14.65	24.10	16.43	18.53	12.09	9.69	14.65
9	69.63	0.134 9	18.53	20.25	13.95	28.08	20.68	19.92	13.03	15.33	12.09	31.93	18.93	9.09	14.65	11.14	19.41

表 3 15 批佐太样品 XRD 相似度评价结果

Table 3 XRD similarity evaluation results of 15 batches of Zuotai samples

样品	相关系数		夹角余弦		样品	相关系数		夹角余弦		样品	相关系数		夹角余弦	
	平均数	中位数	平均数	中位数		平均数	中位数	平均数	中位数		平均数	中位数	平均数	中位数
S1	0.901 7	0.904 7	0.929 6	0.926 3	S6	0.927 5	0.929 2	0.927 6	0.923 2	S11	0.918 7	0.901 9	0.925 7	0.922 1
S2	0.917 2	0.911 0	0.937 0	0.928 0	S7	0.910 6	0.939 7	0.931 0	0.925 7	S12	0.934 2	0.916 2	0.918 8	0.914 6
S3	0.915 8	0.911 7	0.938 0	0.931 8	S8	0.933 6	0.933 1	0.924 2	0.921 4	S13	0.907 2	0.909 0	0.914 0	0.919 2
S4	0.927 6	0.927 5	0.927 1	0.921 9	S9	0.901 9	0.913 0	0.921 8	0.923 5	S14	0.914 3	0.920 4	0.915 4	0.932 0
S5	0.916 1	0.906 5	0.940 7	0.931 8	S10	0.922 3	0.927 2	0.932 0	0.925 7	S15	0.939 6	0.957 4	0.924 0	0.994 5

离平方^[20]，聚类结果见图 4。15 批样品大致可以分为 3 大类，其中 S14 单独为一类；S5、S7、S8、S12 为第 2 类；其余的为第 3 类；在上述分类的基础上，当距离标尺 7 时，第 2 大类又可分为 2 小类，S5 单独为一类，S7、S8、S12 为一类；当距离标尺为 6 时，第 3 大类又被分为 2 小类，S13 和 S15 为一

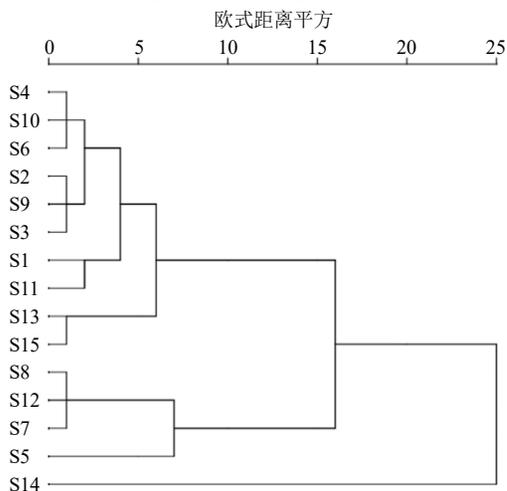


图 4 15 批佐太样品的 XRD 指纹图谱聚类分析

Fig. 4 Cluster analysis of XRD fingerprints of 15 batches of Zuotai samples

类，S1~S4、S6、S9~S11 为一类；当距离标尺为 25 时，所有样品都归为一类。说明虽然各批样品有一定差异性，但总体而言相差较小。

2.1.7 佐太与朱砂的 XRD 图谱对比 将建立的佐太的 XRD 指纹图谱与朱砂的指纹图谱进行对比(图 5)，佐太衍射图谱中标识的 9 个峰为佐太样品的 9 个特征峰。在佐太样品的衍射图谱中， 2θ 值约为 22 和 44 时有 2 个尖锐的单峰，并且在 2θ 值约为 25~

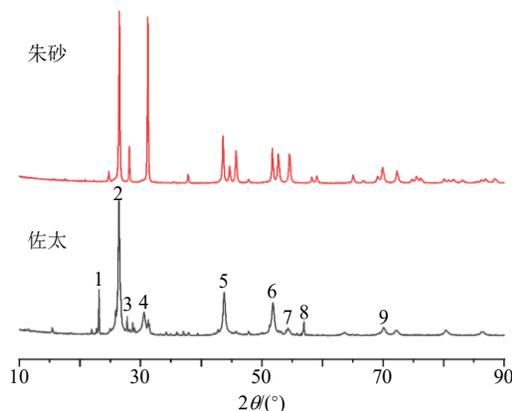


图 5 佐太与朱砂的 XRD 指纹图谱对比

Fig. 5 Comparison of XRD fingerprints of Zuotai and Cinnabar

35 只有 1 个尖锐的单峰,其余均为强度较低的杂峰,而朱砂样品的衍射图谱并无以上特征。因此,建立的佐太的指纹图谱可用于佐太的质量控制,也可用于鉴别主要成分均为 HgS 的朱砂和佐太。

2.2 物相组成及微观结构

2.2.1 佐太样品定性分析 通过 Jade 6.5 软件对藏药佐太进行 XRD 分析,包括确定背景、寻峰处理,可以确定佐太样品中的主要成分,即进行定性分析。定性分析是进行全谱拟合的前提与基础,其准确性将会直接影响到定量分析的准确度。通过定性分析选定物相,调取相应的晶体结构用以制约全谱拟合的准确度^[21-23]。图 6 所示为佐太样品的 XRD 定性分析结果,检索到的主要物相有 3 种:立方晶系的

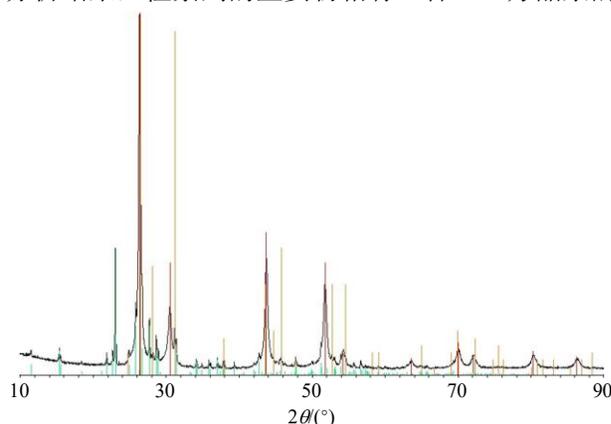


图 6 佐太样品衍射图谱定性分析

Fig. 6 Qualitative analysis of diffraction pattern of Zuotai sample

β 型 HgS (黑辰砂, ICSD06-0256); 六方晶系的 α 型 HgS (辰砂, ICSD89-0432); 正方晶系 S₈ (ICSD83-2283)。

2.2.2 全谱拟合分析 根据定性的结果,通过 TOPAS academic 软件,导入相应的物相,先对谱图进行自动拟合,然后在此基础上,对所涉及到的物相的结构参数进行手动拟合,包括峰型参数、比例因子、晶胞参数等,并且对不对称峰型进行细化处理,直至收敛。经过多次拟合,最终判定因子:图形剩余方差因子 R_p=5.503%,权重图形剩余方差因子 R_{wp}=7.110%,均在 10%以内,表明此结果可靠,全谱拟合分析完成。

通过 XRD 全谱拟合法对佐太样品的分析,确定了样品中主要成分的结构和含量。全谱拟合分析结果显示,样品中立方晶系 β-HgS 的质量分数为 56.86%,六方晶系 α-HgS 的质量分数为 3.570%,正方晶系 S₈ 的质量分数为 39.56% (图 7)。从拟合后的各组分结构的晶胞体积、晶胞参数等参数 (表 4)

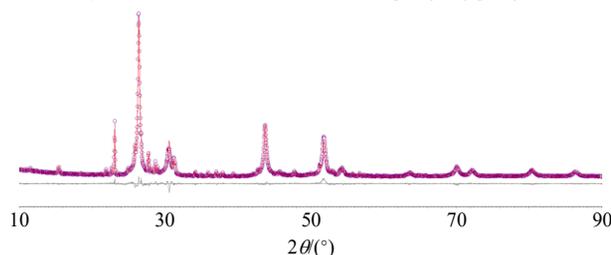


图 7 佐太样品 Rietveld 精修结果

Fig. 7 Rietveld refinement results of Zuotai samples

表 4 佐太样品全谱拟合分析结果和晶体结构参数

Table 4 Complete spectrum fitting results and Crystal structure parameters of Zuotai samples

样品	判定因子/%	ICSD 号	物相组成	物相质量分数/%	晶胞体积/ nm ³	晶体结构参数					
						a/nm	b/nm	c/cm	a/(°)	b/(°)	c/(°)
佐太	R _p =5.503	89 0432	Cubic-HgS	56.865	0.200 7	0.585 5	0.585 5	0.585 5	90	90	90
	R _{wp} =7.110	06 0256	Hex-HgS	3.573	0.141 9	0.415 3	0.415 3	0.950 2	90	90	120
		83 2283	S ₈	39.562	3.301 9	0.104 7	0.128 7	0.244 9	90	90	90

来看,与 ICSD 给出的物相参数基本一致。

另外,利用 VESTA 软件绘制出了佐太样品中各物相成分的晶体结构模拟图,见图 8。

2.2.3 SEM 分析 SEM 结果发现,佐太样品的微观形态为松散的团簇状球状颗粒,粒径大致为 200~800 nm,还有部分可达 200 nm 以下,见图 9。

2.3 佐太中 HgS 的含量测定

2.3.1 K 值法 以 CaCO₃ 为参比物,朱砂为标样,衍射强度 I 为指标,运用 K 值法^[24-25]计算佐太样品中的 HgS 含量。称取适量湖南、贵州、广西产地的

朱砂各 3 份,经玛瑙研钵研至细腻无颗粒,再称取等量的碳酸钙 9 份,将他们按 1:1 的比例混合,用玛瑙研钵研至粉末均匀细腻,按“2.1”项下条件进行 XRD 检测,得到衍射图谱,计算得各组样品 K 值,9 组数据的 RSD 均小于 2%,求得 K 值平均值为 1.01。再将样品和 CaCO₃ 按 4:1 的比例混合,用玛瑙研钵研至均匀细腻,进行 XRD 检测,得到衍射图谱,见图 10。

运用上述求得的 K 值计算 15 批佐太样品中的 HgS 含量,结果见表 5。15 批样品中 HgS 平均质量

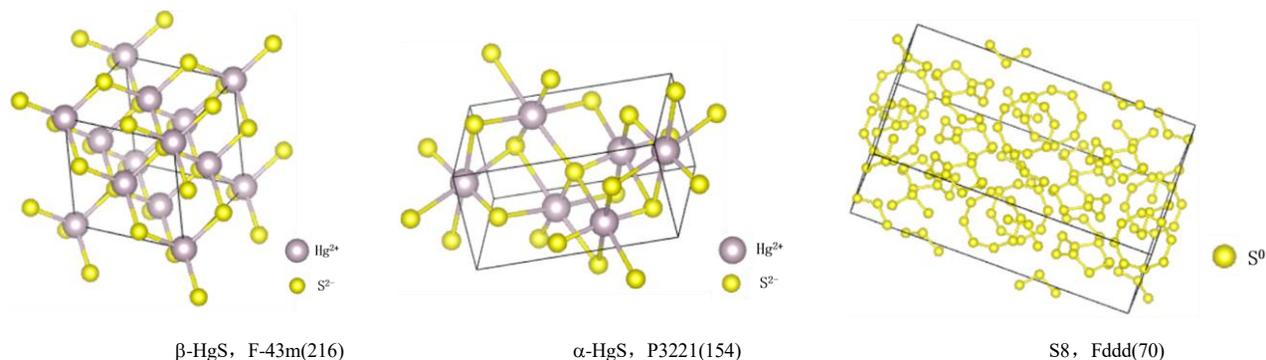


图 8 佐太主要成分晶体结构模拟图

Fig. 8 Simulation diagram of crystal structure of main components of Zuotai

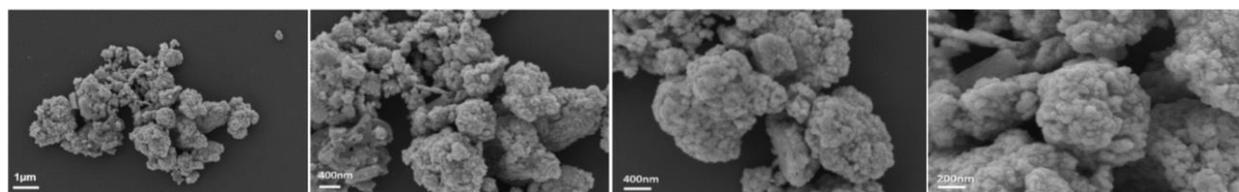


图 9 佐太样品 SEM 图

Fig. 9 SEM of Zuotai sample

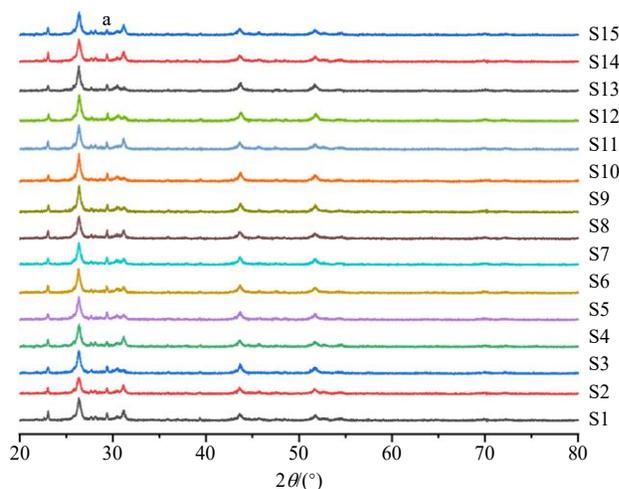


图 10 佐太样品与参考物质碳酸钙 (CaCO₃, a) 混合后 XRD 衍射图谱

Fig. 10 XRD diffraction pattern of Zuotai sample mixed with reference material Calcium Carbonate (CaCO₃, a)

分数为 56.90%，最低值为 49.02%，最高值为 75.09%，佐太中 HgS 质量分数主要在 50%~60%。

2.3.2 硫氰酸铵滴定法 精密称取佐太样品 0.3 g，置于磨口锥形瓶中，加入硝酸钾 2.5 g，浓硫酸 10 mL，采用电炉直火加热，回流消解 30 min，自然冷却 30 min，加水 100 mL，加 1%高锰酸钾至溶液显粉红色，再滴加 2%硫酸亚铁溶液至红色消失，加硫酸铁铵指示液 2 mL，用硫氰酸铵滴定液 (0.1 mol/L) 滴定。每 1 mL 硫氰酸铵滴定液 (0.1 mol/L)

表 5 K 值法与滴定法测得 15 批佐太中 HgS 的含量

Table 5 Content of HgS in 15 batches of Zuotai samples measured by K-value method and titration method

批号	HgS/%		偏差/ %	批号	HgS/%		偏差/ %
	K 值法	滴定法			K 值法	滴定法	
S1	55.56	55.73	-0.17	S9	63.26	63.32	-0.06
S2	50.25	50.32	-0.07	S10	61.73	60.76	0.97
S3	57.03	56.97	0.06	S11	54.62	54.52	0.10
S4	75.09	75.13	-0.04	S12	54.79	54.63	0.16
S5	54.76	53.98	0.78	S13	56.31	56.61	-0.30
S6	62.22	62.87	-0.65	S14	52.83	52.87	-0.04
S7	52.70	52.75	-0.05	S15	53.36	53.41	-0.05
S8	49.02	49.34	-0.32	均值	56.90	56.88	0.02

相当于 11.63 mg 硫化汞。结果同见表 5。

2 种方法测得的 15 批佐太样品中 HgS 含量的差值均小于 1%，说明了 K 值法具有一定的准确性。

3 讨论

本研究通过 XRD 法建立了藏药佐太的 XRD 指纹图谱。其中 2、4~7 号共有峰为 HgS 的特征峰，1、3 号共有峰为 S 的特征峰。相似度评价结果显示，15 批佐太样品的 XRD 图谱总体相似度较高，可以建立佐太 XRD 指纹图谱的分析方法；佐太与朱砂的 XRD 图谱对比表明，建立的佐太的指纹图谱有区别于朱砂的图谱的明显特征，因此，建立的佐太的 XRD 指纹图谱可用于鉴别佐太与朱砂；根据衍

射图谱鉴定出佐太中主要含有的物相为 β -HgS、 α -HgS 和 S 单质；通过聚类分析，15 批佐太样品可以分为 3 大类，其中 ZT0614 单独为一类；ZT0605、ZT0607、ZT0608、ZT0612 为第 2 类；其余的为第 3 类；当距离标尺为 25 时，所有样品归为一类，表明佐太样品的整体质量较为稳定，其差异可能是由于样品组分的复杂、多样、以及制备工艺的差异所导致的。

通过 XRD 全谱拟合法对佐太样品的分析，确定了样品中主要成分的结构和含量，得到的拟合判断因子 R_p 和 R_{wp} 值都小于 10%，谱图吻合度高，拟合结果可靠。拟合结果表明，佐太中立方晶系 β -HgS 为 56.86%，六方晶系 α -HgS 为 3.570%，正方晶系 S_8 为 39.56%，与 K 值法和滴定法所测得的 HgS 的总量相近，说明了 K 值法的准确性较高，为 K 值法测定佐太样品中主成分的含量提供实际证明。

扫描电镜的结果表明，佐太样品大多以 200~800 nm 的微粒存在，佐太发挥药理作用的基础，也可能是与其形成的团簇状颗粒有关。据相关文献报道^[26-27]，佐太作为中药的佐辅料，其增效作用可能是与其在细胞、动物和人体内合成的纳米颗粒有关，佐太可能以纳米载体的形式促进药物到达靶器官，促进药物富集，从而实现协同增效作用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 兰科. 简述藏药佐太 [J]. 中国民族医药杂志, 1999, 5(S1): 86.
- [2] 蒋婀娜, 张春光, 王建华, 等. 藏药“佐太”主要药效学研究 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20(8): 2113-2114.
- [3] 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.
- [4] 张婷, 贾雯靖, 岳会兰, 等. 藏药佐太起效形式研究 [J]. 青海科技, 2021, 28(1): 47-50.
- [5] 索南昂秀. 略谈藏医药佐太的炮制及应用 [J]. 中国民族医药杂志, 2018, 24(1): 35-36.
- [6] 热增才旦, 热毛先, 周加本, 等. 佐太及其主要辅料中无机元素分析 [J]. 中成药, 2021, 43(5): 1253-1258.
- [7] 刘晓娜, 史新元, 贾帅芸, 等. 基于 LIBS 技术的藏药“佐太”快速元素分析研究 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2014, 16(12): 2582-2585.
- [8] 蓝高武, 陈忠杰, 李文虎, 等. 藏药“佐塔”的成分分析 [J]. 时珍国医国药, 2010, 21(12): 3209-3211.

- [9] 何振中, 宋歌, 王凤兰. 藏药“佐塔”制作技艺渊源考 [J]. 中医药文化, 2015, 10(1): 47-50.
- [10] 多杰才让, 马应凤, 王丽娟, 等. 藏药“佐太”与蒙药“孟根乌苏”祛垢炮制法异同及溯源考证 [J]. 中医药导报, 2019, 25(13): 34-35.
- [11] 索郎. 佐塔的炮制 [J]. 中国民族医药杂志, 2007, 13(5): 40.
- [12] 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.
- [13] 王维恩. 藏药“佐太”的粉末 X 射线衍射指纹图谱分析 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(7): 1179-1184.
- [14] 周自强, 孙芳云. 藏药“佐太”的研究进展 [J]. 中国民族民间医药, 2020, 29(23): 55-59.
- [15] 李岑, 占堆, 楞本才让, 等. 藏药佐太的化学成分、汞配位结构及微观形貌分析 [J]. 光谱学与光谱分析, 2015, 35(4): 1072-1078.
- [16] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 8.
- [17] 余倩倩, 黄小清, 殷钰皓, 等. 炉甘石生品及炮制品 X 射线衍射指纹图谱分析 [J]. 中草药, 2020, 51(7): 1868-1877.
- [18] 杨新萍. X 射线衍射技术的发展和和应用 [J]. 山西师范大学学报: 自然科学版, 2007(1): 72-76.
- [19] 胡林彦, 张庆军, 沈毅. X 射线衍射分析的实验方法及其应用 [J]. 河北理工学院学报, 2004(3): 83-86.
- [20] 傅兴圣, 刘训红, 林瑞超, 等. 磁石的 X 射线衍射 Fourier 指纹图谱研究 [J]. 中成药, 2011, 33(10): 1652-1657.
- [21] 万红波, 廖立兵. 膨润土中蒙脱石物相的定量分析 [J]. 硅酸盐学报, 2009, 37(12): 2055-2060.
- [22] 房俊卓, 张霞, 徐崇福. 实验条件对 X 射线衍射物相定量分析结果的影响 [J]. 岩矿测试, 2008, 27(1): 60-62.
- [23] 马礼敦. X 射线粉末衍射的新起点—Rietveld 全谱拟合 [J]. 物理学进展, 1996, 16(2): 251-271.
- [24] 高珺, 胡耀东. K 值法测定工业硅粉中二氧化硅的含量 [J]. 云南冶金, 2017, 46(6): 48-51.
- [25] 曾蒙秀, 宋友桂. 基于麦夸特算法的 X 射线衍射物相定量分析的影响因素研究 [J]. 岩矿测试, 2012, 31(5): 798-806.
- [26] 杨梦, 年永琼, 周雪姣, 等. 藏药佐太对药物代谢酶 CYP2C11 和 CYP2D1 的活性及蛋白和 mRNA 表达的影响 [J]. 中国高原医学与生物学杂志, 2017, 38(3): 176-182.
- [27] 张斌斌, 徐尚福, 徐亚沙, 等. 佐太和 HgS 对药物代谢酶和转运体基因表达的影响 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(21): 4195-4200.

[责任编辑 郑礼胜]