

我国药用雄黄的晶体结构鉴定

张志杰¹, 周群², 尉京志², 张艳玲², 孙素琴^{2*}, 黄璐琦^{1*}, 原思通¹

1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700
2. 清华大学化学系生命有机磷化学及化学生物学教育部重点实验室, 北京 100084

摘要 采用拉曼光谱和 X 射线衍射法, 结合文献研究鉴定我国药用雄黄的晶体结构为 α -As₄S₄。实验选取我国唯一药用雄黄的基源矿石——湖南石门雄黄矿石及临床药用的饮片、中成药制剂等 10 批样品为研究对象, 测定了其 XRD(X-ray diffraction)图谱和拉曼光谱, 其特征谱线经全谱拟合获得了 PDF(the powder diffraction file)号及晶体常数, 拉曼光谱解析了其成键情况, 并且通过对不同构型雄黄的鉴别, 验证了我国药用雄黄的晶体结构。同时, 对六种常规方法制备的 18 批炮制品及含雄黄中成药制剂的研究发现, 常规的炮制加工和制剂生产不会造成雄黄晶体结构的变化。该研究结果澄清了我国药用雄黄的化学本质, 为雄黄的质量标准制订以及吸收机理研究奠定了基础。

关键词 药用雄黄; 晶体结构; α -As₄S₄; X 射线衍射; 拉曼光谱

中图分类号: R282.7 文献标识码: A DOI: 10.3964/j.issn.1000-0593(2011)02-0291-06

引言

雄黄是传统矿物药, 始载于《神农本草经》, 列为中品。中医临床常用于治疗痈肿疔疮, 虫积腹痛等症, 近年雄黄及其复方制剂用于治疗急性粒细胞性白血病取得了很好的效果。

雄黄的临床疗效显著, 但是, 学术界对雄黄的主成分砷化硫的晶体结构争议颇多。自 1985 年版以来, 我国药典一直将雄黄(realgar)规定为 As₂S₂^[1,2], 而多名学者认为雄黄应为 As₄S₄^[3]或 AsS^[4], 行业内在雄黄化学本质的认识上存在严重混乱, 以至在涉及雄黄的药物研发及专利申请中都不得不采用一些模糊甚至相互矛盾的表述^[5]。鉴于此, 测定我国药用雄黄的晶体结构, 澄清其化学本质已非常迫切。

目前为止, 研究发现雄黄的晶型共有四种: Ito 等首次确认天然雄黄(realgar, α -As₄S₄)的晶体结构为单斜晶系, 空间群为 $P2_1/n$, 见图 1(a)^[6]; Porter 等报道了雄黄的 β -As₄S₄ 构型^[7], 这是一个高温稳定相, 空间群为 $C2/c$, 其晶体结构见图 1(b); Kutoglu 等在 500~600 °C 将 realgar 熔融物淬火重结晶获得了 As₄S₄ 的同质异象体— χ -As₄S₄^[8], 其晶体结构见图 1(c)。Roberts 等发现了雄黄的一种新晶型^[9], 单斜晶系, 空间群为 $P2_1/c(C_{2h}^5)$, 这种新晶型被称为 pararealgar,

副雄黄, 其晶体结构见图 1(d)。

我国药用雄黄均为天然来源的高品位雄黄矿石, 经过常规的粉碎、水飞、酸洗等方法炮制后入药。多年来, 对我国药用雄黄的晶体结构分析也有零星报道, 但因样品缺乏代表性, 数据检索失误等原因, 我国药用雄黄的晶体结构一直未有定论。本文采用拉曼光谱和 X 射线衍射法, 分析测定了我国药用雄黄的矿石、临床应用的雄黄饮片、含雄黄的中成药制剂及不同加工方法制备的炮制品等共 28 批样品, 结合文献研究鉴定了我国药用雄黄的晶体结构。

1 实验部分

1.1 样品情况

本实验采集的雄黄样品包括矿石、医院临床样品、饮片厂生产的雄黄粉及含雄黄的中成药制剂等雄黄样品共 10 批。作为对照, 有购自美国 sigma-aldrich 公司的 arsenic sulfide。样品情况见表 1; 其中采自湖南石门雄黄矿业有限公司高品位雄黄矿石共 60 kg。其余国内样品的原矿石产地均为湖南。样品均避光储存。

另自制雄黄的六种常规炮制品, 每种炮制品制备三批, 炮制品情况见表 2。

收稿日期: 2010-09-08, 修订日期: 2010-12-12

基金项目: 中国中医科学院自主选题项目(Z57)资助

作者简介: 张志杰, 女, 1969 年生, 中国中医科学院中药研究所博士后 e-mail: zztcm@126.com

* 通讯联系人 e-mail: sunsq@mail.tsinghua.edu.cn; huangluqi@263.net

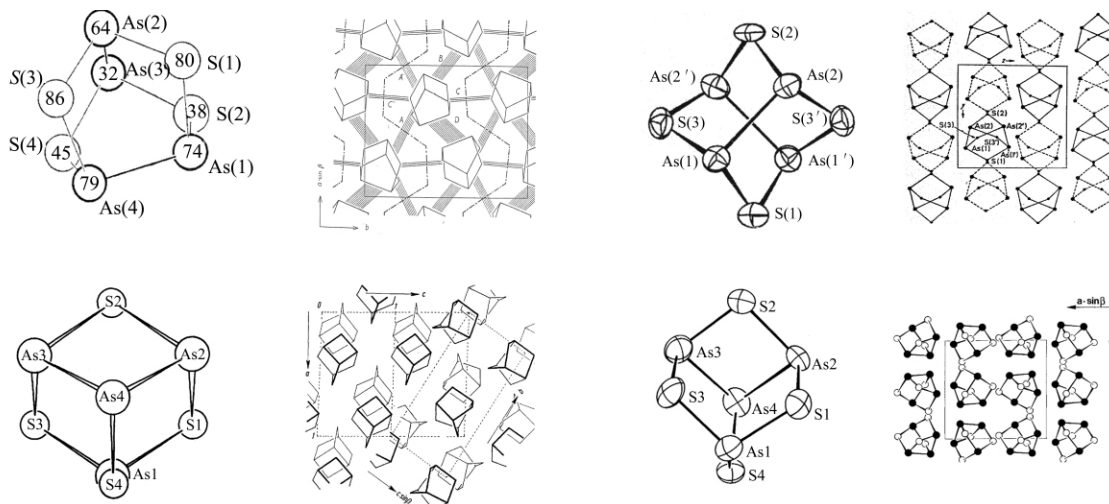


Fig 1 Molecular structures of realgar

(a): α -As₄S₄, Reproduced from Ito, Morimoto and Sadanaga, 1952; (b): β -As₄S₄, Reproduced from E. J. Porter and G. M. Sheldrick, 1972; (c): γ -As₄S₄, Reproduced from A. Kutoglu, Z. Anorg., 1976; (d): pararealgar, Reproduced from A. C. Roberts, H. G. Ansell and M. Bonardi, 1980

Table 1 Descriptions of the samples

No	Source	Collected time or batch
1	湖南省石门矿业有限公司(矿石)	2008.12
2	北京市东直门医院	2009.1
3	南京市百草堂中医门诊部	2009.1
4	河南省平顶山市中医院	2009.1
5	浙江中医药大学中药饮片厂(雄黄粉)	2009.10
6	河南瑞龙中药饮片公司(矿石)	2009.12
7	河南瑞龙中药饮片公司(雄黄粉)	091201
8	赤峰天奇制药有限责任公司(矿石)	2010.4
9	赤峰天奇制药有限责任公司(雄黄粉)	2010.4
10	安徽省天康药业有限公司(复方黄黛片)	091001
11	美国 sigma-aldrich 公司(纯度 98%)	12581AJ

Table 2 Methods to prepare the samples

炮制品名称	炮制方法
雄黄干粉	雄黄粉碎为细粉
水飞雄黄	雄黄加少量水研磨, 然后以水悬浮, 将悬浮的雄黄细粉倾出, 沉淀, 滤过, 40℃干燥
水洗雄黄	雄黄粉碎为细粉, 加水搅拌, 滤过, 40℃干燥
酸洗雄黄	雄黄细粉加 1→100(V/V)稀盐酸搅拌, 滤过, 水洗至中性, 40℃干燥
碱洗雄黄	雄黄细粉加 0.1N NaOH 搅拌, 滤过, 水洗至中性, 40℃干燥
醋洗雄黄	雄黄细粉加米醋搅拌, 滤过, 水洗至中性, 40℃干燥

1.2 实验仪器与工作条件

德国布鲁克公司多晶 X-射线衍射仪, 型号 D8 Advance, Cu 靶, 扫描范围: 10°~70°, 步长 0.02°, 工作电压 40 kV, 工作电流 40 mA。谱图采集及数据拟合采用 MDI Jade6.5 软件, PDF(the powder diffraction file)卡片数据库采用国际“粉末衍射标准联合委员会”(The Joint Committee on Powder

Diffraction Standards, JCPDS)发布的 PDF2。

PerkinElmer 公司中阶梯光栅型拉曼光谱仪 RamanMicro300, 中阶梯光栅, 二维面阵 CCD 检测器, 激发波长: 785 nm, 放大倍数: 20 倍; 功率: 60%, 积分时间: 2 s, 累加次数: 10 次。图谱采集及处理采用 Perkin Elmer 公司的 Spectrum v5.0.1 操作软件。

1.3 实验过程

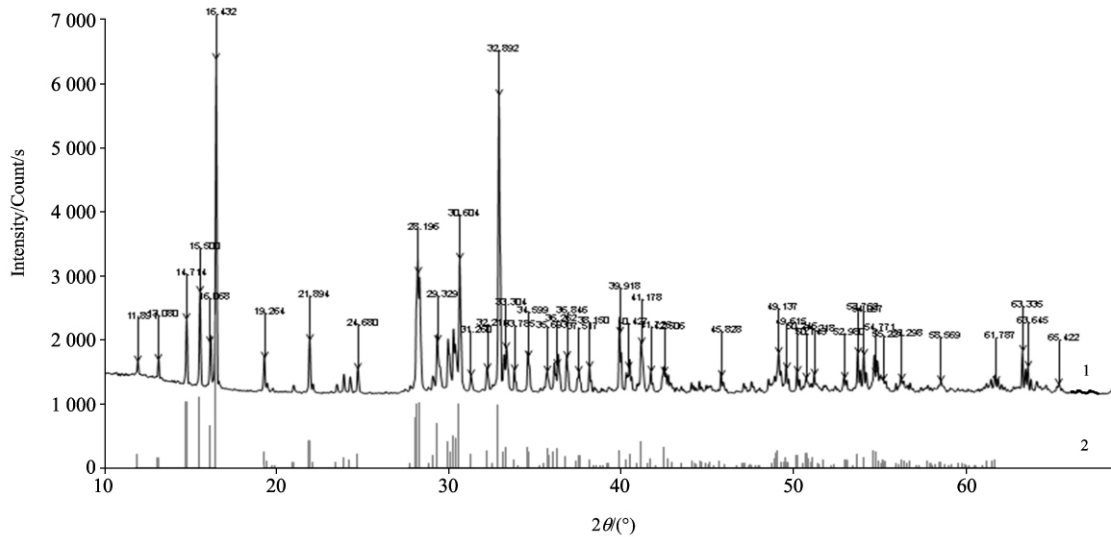
XRD 分析: 矿石样品用玛瑙研钵研成均匀细粉供测试, 其中湖南石门雄黄样品中, 随机选取 10 块矿石分别测试, 其余矿石样品采集后立即测试; 饮片直接测试, 测试均在采集后立即进行; 中成药制剂去除包衣, 玛瑙研钵研成均匀细粉测试。6 种炮制品在炮制前后分别测试。获得的样品 X 射线衍射图谱, 经分析软件全谱拟合, 即可得到样品的晶胞参数, 晶体常数及对应的 PDF 卡片号。

拉曼光谱分析: 直接测试矿石及饮片, 中成药制剂去除包衣测试内容物, 每个样品测 5 个点。获得样品的激光拉曼图谱, 谱图采用 PerkinElmer 公司 Spectrum v5.0.1 软件分析。

2 结果与分析

2.1 X 射线衍射分析的结果

来源于湖南石门雄黄的 60 kg 矿石中, 随机测试了 10 块矿石, 其中 8 块矿石的 XRD 图谱经检索均为单一物相, 其特征峰数据经全谱拟合, 对应的 PDF 卡片号分别为 73-2112 和 71-2434, 给出的物质名称为 realgar, 化学式为 As₄S₄。经文献追踪检索, 对应的文献分别是 Ito 等^[6]、Mullen 等^[10]的研究成果, 其构型为 α -As₄S₄。在 8 个样品中, 相对峰高(I/I₀)大于 5% 的共有特征峰共 32 个, 8 个样品的最强峰的面间距(d 值)均在 5.4 左右(实测 2-Theta 范围在 16.477~16.558), 各共有特征峰的角度位置大体相近, 但各峰的峰强度在多样



(a) File: 31 10-06-04. raw-Type: 2Th/Th locked-Start: 10. -End: 70-Step: 0.020 -Step time: 11.2 s-Temp.: 27-Time Started: 6 s-2-Theta (b): 01-071-2434(C)-Realgar-AsS-Y: 37.22%-dx by: 1.-WL: 1.540 6-Monoclinic-a 9.325 00-b 13.571 00-c 6.587 00-alpha 90.000 -beta-106.380-gamma 90.000-Primitive-P2₁/n(14)-16-799.749-I/I₀: PDF 1.6-

Fig 2 Typical XRD spectrum of realgar-ore with Single phase

realgar 1: sample, 2: PDF of realgar

Table 3 X-ray powder data of 8 realgar-ore samples: common peaks

Peak No.	d /Å	I/I ₀	Peak No.	d /Å	I/I ₀
1	7.4	5.2~8.9	17	2.75	5.6~10.1
2	6.7	6.0~8.6	18	2.70	31.3~47.3
3	6.0	18.1~29.4	19	2.67	9.5~18.5
4	5.7	36.9~74.2	20	2.57	9.7~17.4
5	5.5	14.6~27.1	21	2.50	5.0~9.7
6	5.4	100.0	22	2.37	5.2~9.4
7	4.6	8.9~11.4	23	2.33	5.1~6.1
8	4.0	11.0~15.9	24	2.24	11.9~27.5
9	3.7	6.0~10.2	25	2.17	10.6~24.8
10	3.6	5.8~20.1	26	2.14	5.0~6.6
11	3.1	37.7~64.3	27	2.11	7.1~15.7
12	3.0	10.5~44.2	28	1.84	7.9~15.4
13	2.96	17.2~25.8	29	1.80	5.0~13.9
14	2.92	15.9~27.0	30	1.69	7.1~8.8
15	2.89	33.3~62.3	31	1.68	5.5~11.8
16	2.83	6.4~12.4	32	1.66	5.7~15.1

品间差异较大, 相对峰高变化可达 2 倍以上。共有峰数据见表 3, XRD 图谱见图 2, 图 3。

另 2 块矿石的图谱经检索为雄黄与雌黄 (orpiment, As₂S₃) 共生, 特征峰情况见图 4; 与雄黄的单一物相图谱比较, 含有雌黄的样品在面间距 (d 值) 4.7 左右有峰出现 (2-Theta 实测值 18.719~18.817), 该峰为雌黄的最强峰, 在雄黄矿石样品中, 该峰的强度与矿石中所含雌黄的量相关。除雌黄的特征峰外, 共生相中雄黄的特征峰与单一物相雄黄的特征峰的角度位置基本一致 (见图 5), 说明两者晶体结构一致, 共生相中的雄黄也是 α-As₄S₄。

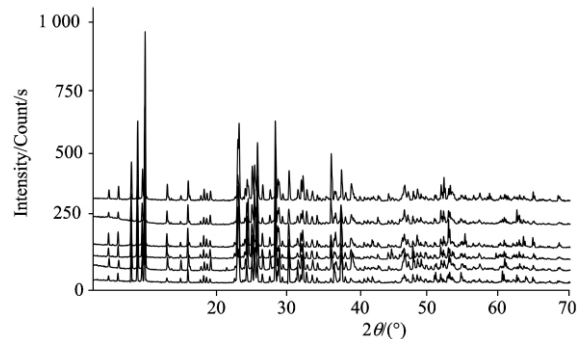


Fig 3 XRD spectra of eight realgar-ore with Single phase: realgar

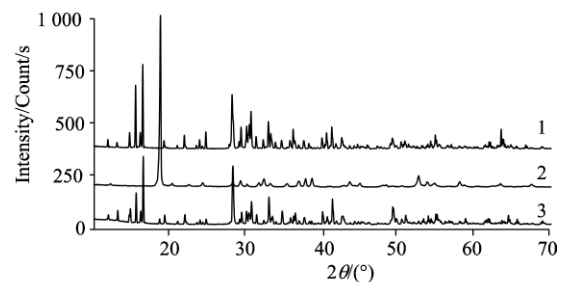


Fig 4 XRD spectra of realgar, orpiment and intergrowth texture

1: Realgar; 2: Orpiment; 3: Intergrowth texture of realgar and orpiment

我国 10 批药用雄黄样品经 XRD 测试均显示 realgar 的特征谱线, 经软件计算及全谱拟合, 发现其中 2 个样品为单一的雄黄, 7 个样品为雄黄与雌黄共生, 中成药制剂复方黄

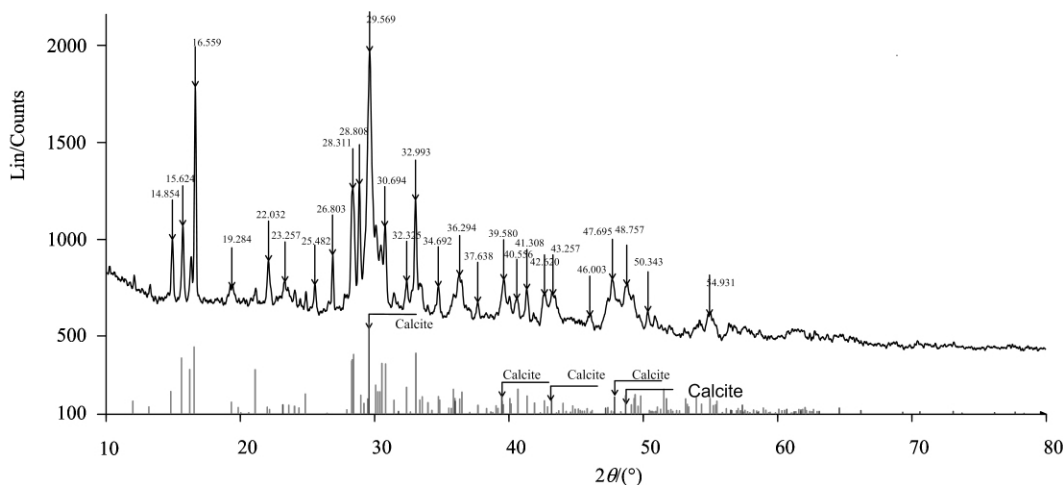
黛片为雄黄与 CaCO_3 的混合相,说明样品中有 CaCO_3 晶体,推测可能是制剂辅料,见图 5。全部样品中雄黄的物相经拟合获得的卡片号分别为 73-2112 和 71-2434;经文献追踪检索,对应的文献分别是 Ito 等^[6]、Mullen 等^[10]的研究成果,其构型为 $\alpha\text{-As}_4\text{S}_4$ 。

作为物相分析的重要手段,X 射线衍射具有独到之处,但是,通过分析也发现,作为天然产物,雄黄样品的 X 射线衍射分析中存在着特征峰强度差异大,角度位置有偏移,个别样品信号弱等不尽如人意之处,为进一步验证我国药用雄

黄的晶体结构,我们对样品进行了拉曼光谱分析,通过对硫化砷成键情况的分析,阐释我国药用雄黄的分子结构。

2.2 拉曼光谱对样品构型的确证

拉曼光谱分析结果显示:我国 10 批药用雄黄的拉曼光谱一致性非常好,全部 12 个谱峰均为共有峰,各样品峰位一致,峰强规律基本一致,见图 8 和图 9。通过对拉曼光谱的谱峰分析(表 4)^[11],可以确认本实验所采集的我国雄黄矿石、药用雄黄饮片及中成药制剂中所使用的雄黄均为 $\alpha\text{-As}_4\text{S}_4$ 。



☒ File: 1003-25.raw-Type:2Th/Th locked-Start:10.0-End:80.0-Step:0.020-Step time:16.8s-Temp:24-Time Started: 6s-2-Theta: 10.0-Theta: 5.0
 ☒ 01-073-2112 (C)- Realgar - As₄S₄- Y: 18.35 %- d x by: 1.- WL: 1.5406- Monoclinic- a 9.27000 - b 13.50000- c 6.56000- alpha 90.000- beta 106.620- gamma 90.000- Primitive- P21/n (14) -16 -786.654- I/Ic PDF 0.9-
 ☒ 01-072-1650 (C)- Calcite- CaCO₃- Y: 25.00 %- d x by: 1.- WL: 1.5406- Rhombo.H.axes- a 4.99300- b 4.99300- c 16.91700- alpha 90.000- beta 90.000- gamma 120.000-Primitive- R-3c (167)- 6- 365.239- I/Ic PDF

Fig 5 XRD spectrum of realgar and CaCO_3 in Fufang Huangdai Pian

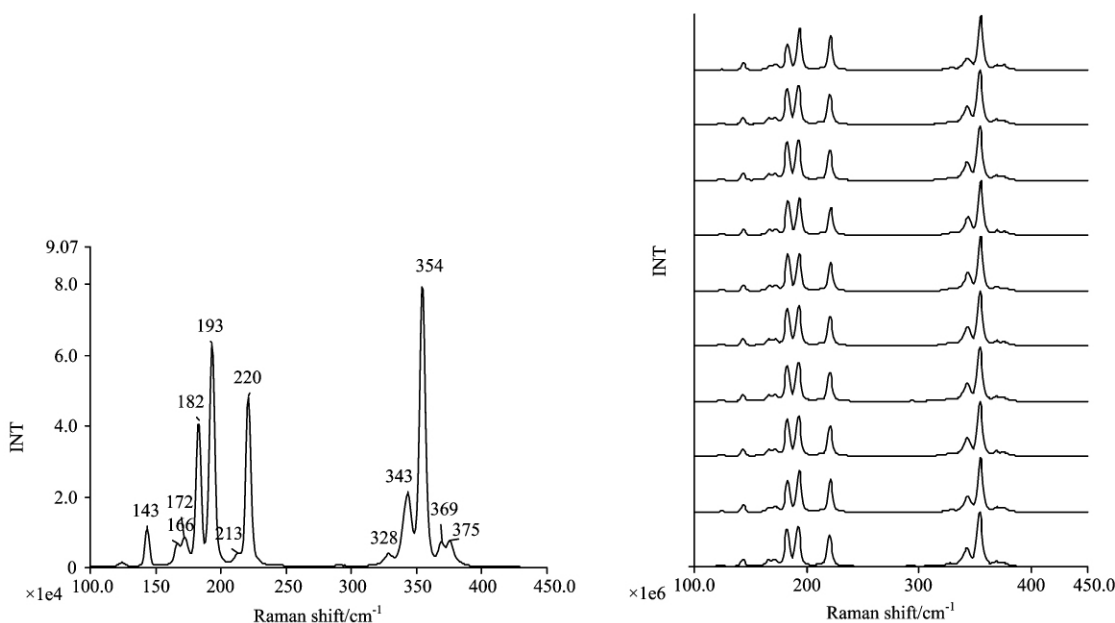


Fig 6 Raman spectra of Realgar and 10 batches Medicinal Realgar in China

2.3 两种构型雄黄的比较鉴别

为了方便地确定雄黄的晶体结构,课题组购买了美国 sigma-aldrich 公司出品的 arsenic sulfide(纯度 98%)作为对

照品,出乎意料的是, sigma-aldrich 公司出品的 arsenic sulfide 的 X 射线衍射图及拉曼光谱与我国雄黄样品差异明显(图 8)。arsenic sulfide 的 X 射线衍射图谱信号非常微弱,难

以有效鉴定其晶体结构。为了对两者进行鉴别，我们对两种样品的拉曼光谱成键情况作了比较分析，两种构型雄黄的拉曼数据见表 4。分析结果确认我国药用雄黄为 α -As₄S₄，购自 sigma-aldrich 公司的雄黄为 χ -As₄S₄。考虑到 χ -As₄S₄ 是在

500~600 °C 条件下将 realgar 熔融物淬火重结晶所得^[11]，推测 sigma-aldrich 公司 χ 构型的雄黄样品是纯化过程中发生相变而成，且在纯化过程中，样品的晶格排列情况遭到了破坏。

Table 4 Raman data of α -As₄S₄, χ -As₄S₄

α -As ₄ S ₄		χ -As ₄ S ₄	
143 cm ⁻¹	As-As-S 弯曲振动	144 cm ⁻¹	As-As-S 弯曲振动
166 cm ⁻¹	As-As-S 弯曲振动	164 cm ⁻¹	As-As-S 弯曲振动
172 cm ⁻¹	As-As 伸缩振动	185 cm ⁻¹	As-As-As 伸缩振动
182 cm ⁻¹	As-S-As 弯曲振动	217 cm ⁻¹	As-S-As 弯曲振动
193 cm ⁻¹	As-As 伸缩振动	232 cm ⁻¹	As-As-As 伸缩振动
220 cm ⁻¹	As-As-S 弯曲振动	342 cm ⁻¹	S-As-S 伸缩振动
342, 354 cm ⁻¹	As-S 弯曲振动	360 cm ⁻¹	As-S 弯曲振动

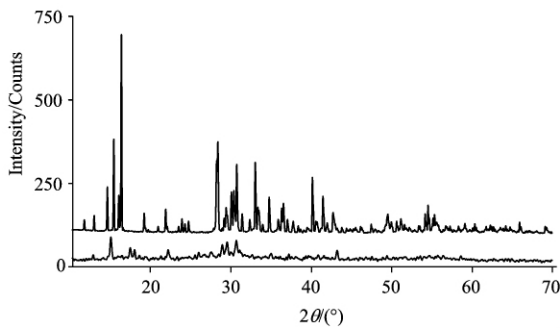


Fig 7 XRD spectra of 1: α -As₄S₄, 2: χ -As₄S₄

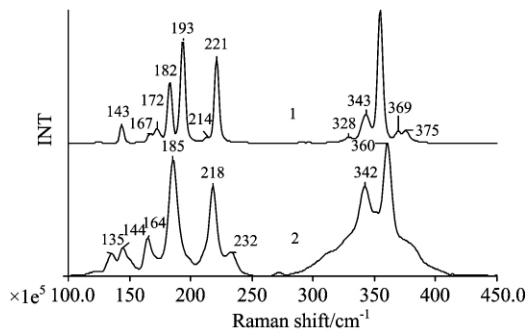


Fig 8 Raman spectra of 1: α -As₄S₄, 2: χ -As₄S₄

2.4 炮制、制剂对雄黄构型的影响

雄黄需经过炮制方能入药，制成中成药时，也要经过制剂生产过程，常规的炮制加工和制剂生产会引起雄黄晶体结构的变化？本实验分析了常规炮制加工品和中成药制剂中雄黄的晶体结构，结果显示，常规的炮制加工和制剂生产不会造成雄黄的晶体结构的改变，见图 5，图 9。

3 讨论

实地调研及文献研究发现，湖南石门雄黄矿是世界上最大的雄黄矿，已开采 1 400 余年，也是我国唯一一个品质符合药典要求的雄黄矿，自 20 世纪 80 年代以来，一直是国内药用雄黄的唯一来源^[12]，且资源也在严重萎缩中。就其全部矿脉来讲，地质成因一致，矿物共生组合简单^[13]，本实验的

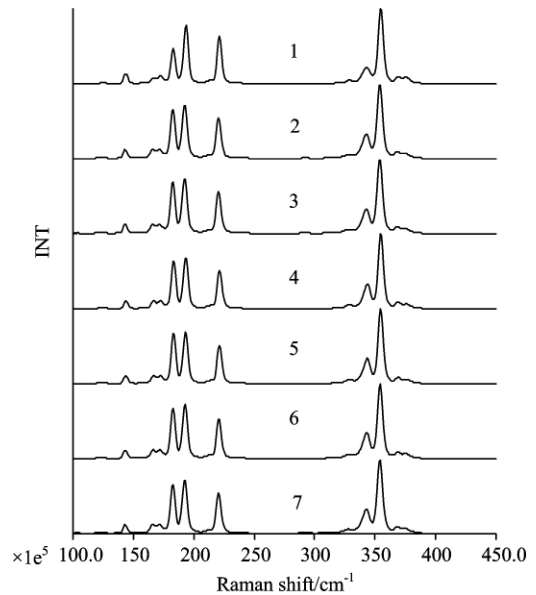


Fig 9 Raman spectra of prepared realgar with different processing procedures

1: Ore; 2: Powder; 3: Refine with water; 4: Water washing; 5: Acid washing; 6: Alkaline washing; 7: Vinegar washing

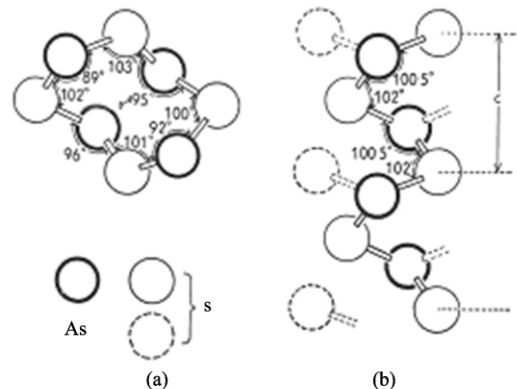


Fig 10 Molecular structures of (a): realgar and (b): orpiment. In (b) is shown an As₂S₂ spiral chain (heavy and light full circles), and an As₂S₃ layer (full and broken circles). Reproduced from Ito, Morimoto and Sadanaga, 1952)

样本量可以代表湖南石门雄黄的整体状况。

雄黄入药, 均需经过炮制加工或制剂加工, 本实验对雄黄的常规炮制品及中成药制剂的分析结果表明: 常规的炮制加工及制剂生产不会造成雄黄晶体结构的改变。

据上述实验结果, 可以判定: 湖南石门雄黄矿所产雄黄为 α -As₄S₄ 型, 以该矿矿石为基源的我国药用雄黄的晶体结构为 α -As₄S₄。

在雄黄的晶体结构研究中, 还出现过雄黄是 As₂S₂ 的说法, 并且中国药典目前仍在沿用这种说法, 但是, 迄今为止, 未见到认定雄黄晶体结构为 As₂S₂ 的研究报告, 国际“粉末

衍射标准联合委员会”JCPDS 曾发布过 As₂S₂ 的 PDF 卡片, 但后来删除了该卡片^[14]。与之相关的是, 在 1952 年 ITO 等的研究报告中, 作者认为雄黄(realgar, As₄S₄)可以容易地向雌黄(orpiment, As₂S₃)转变, 其转变的过程似乎可以通过一个虚拟的 As₂S₂ 结构来完成^[6], 示意图见图 10。

上述研究可见, As₂S₂ 并不是真实的晶体结构类型, 建议《中国药典》对该表述进行修订。

致谢: 感谢清华大学王如骥教授、法国南锡大学 Ding 博士在晶体结构解析方面所给予的帮助。

References

- [1] Editorial Committee of China Pharmacopoeia(国家药典委员会编). The Pharmacopoeia of the PRC(中华人民共和国药典). 1985 edition. Part 1(1985 版, 1 部), 298.
- [2] Editorial Committee of China Pharmacopoeia(国家药典委员会编). The Pharmacopoeia of the PRC(中华人民共和国药典). 2010 edition. Part 1(2010 版, 1 部), 318.
- [3] Luo Li-yun, Huang Jian, Gou Bao-di, et al. Leukemia Research, 2006, 30: 1399.
- [4] TANG Yi-shan, WANG Ning-sheng(汤毅珊, 王宁生). Journal of Modern Food and Pharmaceuticals(现代食品与药品杂志), 2007, 17(2): 30.
- [5] LU Dao-pei(陆道培). Patent(专利) CN1299284, 2001.06.13; WO99/55344 1999.11.04.
- [6] Ito T, Morimoto N, Sadanaga R. Acta Crystallogr., 1952, 5: 775.
- [7] Porter E J, Sheldrick G M. J. Chem. Soc. Dalton Trans., 1972, 13: 1347.
- [8] Kutoglu A, Anorg Z. Allg. Chem., 1976, 419: 176.
- [9] Roberts A C, Ansell H G, Bonardi M. Can. Miner., 1980, 18: 525.
- [10] Mullen D J E, Nowacki W. Z. Kristallogr., 1972, 136: 48.
- [11] Bonazzi P, Menchetti S, Pratesi G, et al. American Mineralogist, 1996, 81: 874.
- [12] LIU Yun-he(刘运和). Acta Minera Logica Sinica(矿物学报), 1992, 12: 52.
- [13] XIONG Xian-xiao(熊先孝). Mining Geology(矿山地质), 1991, 3: 160.
- [14] JCPDS, PDF2, PDF210805.

Validation of the Crystal Structure of Medicinal Realgar in China

ZHANG Zhi-jie¹, ZHOU Qun², WEI Jing-zhi², ZHANG Yan-ling², SUN Su-qin^{2*}, HUANG Lu-qi^{1*}, YUAN Si-tong¹

1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

2. Key Laboratory of Bioorganic Phosphorus Chemistry Biology (Ministry of Education), Department of Chemistry, Tsinghua University, Beijing 100084, China

Abstract The crystal structure of medicated realgar in China was validated as α -As₄S₄ by X-ray diffraction and Raman spectroscopy in the present paper. Ten batches of medicinal realgar were analyzed including realgar ore, medicinal realgar powder, and prepared Chinese medicine. Identification of two As₄S₄ polymorphs confirmed that the crystal structure of medicated realgar in China is α -As₄S₄. Studies on 18 batches of preparative realgar powder showed that processing of realgar can not change the crystal structure of realgar.

Keywords Medicinal realgar; Crystal structure; α -As₄S₄; X-ray diffraction; Raman spectrum

(Received Sep. 8, 2010; accepted Dec. 12, 2010)

* Corresponding author