

## 化风丹的研究进展

徐文峰<sup>1</sup>, 李怡<sup>2</sup>, 金鹏飞<sup>1\*</sup>, 徐硕<sup>1</sup> (1. 北京医院 药学部 国家老年医学中心, 北京 100730; 2. 北京医院 中医科 国家老年医学中心, 北京 100730)

**摘要:** 化风丹是临床常用的中成药。本文对近年来化风丹在制剂工艺、质量控制、毒理作用、治疗作用、药物代谢动力学、药效物质基础及不良反应等方面的研究进展进行综述, 为化风丹的深入研究提供参考。

**关键词:** 化风丹; 中药复方; 朱砂; 雄黄; 毒理; 质量控制; 研究进展

中图分类号: R282.91

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2017)08-1100-06

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2017.08.019

## Research progress of Huafengdan

XU Wen-feng<sup>1</sup>, LI Yi<sup>2</sup>, JIN Peng-fei<sup>1\*</sup>, XU Shuo<sup>1</sup> (1. Department of Pharmacy, Beijing Hospital, National Center of Gerontology, Beijing 100730; 2. Department of Traditional Chinese Medicine, Beijing Hospital, National Center of Gerontology, Beijing 100730)

**Abstract:** Huafengdan is a commonly used traditional Chinese medicine in clinical practice. This paper reviewed the advance in pharmaceutical technology, quality control, toxicological effect, therapeutical effect, pharmacokinetics, pharmacodynamic material basis and adverse reactions of Huafengdan for further study of Huafengdan.

**Key words:** Huafengdan; Chinese compound formula; cinnabar; realgar; toxicology; quality control; research progress

化风丹由紫苏叶、僵蚕、全蝎、制天南星、苍术、雄黄、硼砂、巴豆霜、人工麝香、冰片、天麻、荆芥穗、檀香、朱砂等 14 味中药加药母制成, 其药母由牛胆汁、白附子、生半夏、生天南星、生川乌、郁金、神曲等 7 味中药按比例混匀、发酵、风干制得。成品为朱红色的水丸, 剖面显棕黄色, 有强烈香气, 味辛。化风丹具有息风镇痉、豁痰开窍等功效, 临床主要用于治疗风痰闭阻、中风偏瘫、癫痫、面神经麻痹、口眼歪斜等症, 1951 年被列入国务院保护的四大名药之一, 2008 年入选国家级非物质文化遗产名录<sup>[1]</sup>。根据国家食品药品监督管理总局的最新数据, 全国共有三家药企生产化风丹, 分别为贵州万胜药业有限责任公司、遵义廖元和堂药业有限公司和云南白药集团大理药业有限责任公司。本文对近年来化风丹在制剂工艺、质量控制、毒理作用、治疗作用、药物代谢动力学、药效物质基础及不良反应等方面的研究进展综述如下。

### 1 制剂工艺研究

化风丹的制备主要分为药母的制备和成药的制备。药母的制备方法为: 取处方中白附子、生半夏、生天南星、生川乌、郁金、神曲粉碎成细粉, 加入牛胆汁混合均匀, 置于封闭容器中发酵 30 ~ 35 d, 取出后制

成鹅蛋形状大小的圆球, 常温下阴干 30 ~ 40 d, 待干燥成型后置于通风透气网袋中继续风干 90 ~ 120 d, 待圆球呈现多个蜂窝小孔时, 粉碎, 过筛, 即得。成药制备方法为: 除药母、朱砂、人工麝香和雄黄外, 其余紫苏叶等 11 味中药粉碎成细粉; 雄黄水飞, 与药母及其他中药细粉混匀, 用水泛丸; 朱砂水飞后与人工麝香混合, 并均匀泛于药丸表面; 加入川蜡与药丸混合, 抛光、烘干, 即得<sup>[2]</sup>。

发酵是指经净制或处理后的药物, 在一定的温度和湿度条件下, 通过霉菌和酶的作用, 使药物发泡、生衣的过程。发酵法一直是中药炮制方法之一, 它借助微生物的作用, 改变中药原有药性, 提高疗效, 降低不良反应, 扩大适应证。化风丹药母的传统制作工艺就是通过发酵来降低药母中原料的毒性。但传统发酵工艺只是简单的将药母置于自然条件下发酵, 受外界环境的影响较大, 导致发酵所需时间较长, 延长了化风丹生产周期; 此外由于自然环境变化差异大, 药母的发酵仅靠炮制人员凭经验来判断炮制终点, 使得药母的质量不够稳定, 可控性低, 不利于化风丹的现代化生产。贵州万胜药业有限责任公司和遵义廖元和堂药业有限公司共同发明了一种化风丹药母的发酵制

作者简介: 徐文峰, 男, 主管药师, 主要从事药物分析方面的研究, E-mail: xuwenfenghill@126.com \* 通讯作者: 金鹏飞, 男, 主任药师, 主要从事药物分析、医院药学研究, Tel: (010) 85133620, E-mail: j790101@163.com

备方法：取处方中白附子 28.2 份、生半夏 28.2 份、生天南星 28.2 份、生川乌 28.2 份、郁金 14.1 份、神曲 0.14 份粉碎成细粉；加入牛胆汁（ $\text{pH} = 6.0 \sim 8.0$ ；密度  $0.800 \sim 1.300$ ；固形物： $0.0200 \sim 0.2500 \text{ g}$ ；胆酸含量： $8.000 \sim 45.000 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ）126.7 份混合均匀，置于密闭容器中，在温度  $20 \sim 40^\circ\text{C}$ ，湿度  $50\% \sim 80\%$  的条件下发酵  $30 \sim 35 \text{ d}$ ，取出，干燥，即得。该方法生产周期短、制成的药母质量稳定，安全性高，可控性好<sup>[2]</sup>。

干燥是制剂工艺中的重要环节。干燥方式、干燥温度、干燥时间等都可能对药物中的化学成分产生不同程度的影响，进而导致药物药效的迥异。曹国琼等<sup>[3]</sup>以药母总生物碱含量为指标，结合其外观性状和含水量，比较自然阴干、烘干、减压干燥和微波干燥 4 种处理方法对化风丹药母质量的影响。实验结果显示不同干燥方法药母的外观性状、水分和总生物碱含量均有较大差异，其中总生物碱以微波干燥 120 s 含量最高，其次为  $60^\circ\text{C}$  真空干燥 4.5 h、 $60^\circ\text{C}$  烘箱干燥 4.5 h、微波干燥 105 s，阴干 45 d 最低；水分含量  $60^\circ\text{C}$  烘箱干燥 3.5 h 最高，微波干燥 120 s 最低；真空干燥内外色泽一致，烘箱烘干内外色泽有差异，微波干燥呈焦黑色。综合各项指标，化风丹药母干燥方法宜采用  $60^\circ\text{C}$  减压真空干燥 4.5 h。

在中药制剂中，制剂工艺是影响药物质量的重要因素，文献仅对化风丹发酵和干燥 2 个重要环节有相关研究报道，开展其他如混合、制丸等制剂环节对化风丹药物质量影响的研究也很有必要。

## 2 质量控制研究

曹国琼等<sup>[4]</sup>建立了高效液相色谱同时测定化风丹药母中乌头碱、新乌头碱和次乌头碱含量的方法，以更好地控制化风丹药母的质量。色谱条件为： $\text{C}_{18}$  色谱柱（ $4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$ ， $5 \mu\text{m}$ ），流动相为 A：乙腈 - 四氢呋喃（25：15），B： $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  乙酸铵溶液（每 1000 mL 加冰醋酸 0.5 mL），梯度洗脱（ $0 \sim 22 \text{ min}$ ， $20\% \text{ A} \sim 23\% \text{ A}$ ； $22 \sim 40 \text{ min}$ ， $23\% \text{ A} \sim 25\% \text{ A}$ ），流速为  $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ，柱温  $30^\circ\text{C}$ ，检测波长  $235 \text{ nm}$ 。在该条件下，乌头碱、新乌头碱、次乌头碱分别在  $0.258 \sim 1.548 \mu\text{g}$ 、 $0.322 \sim 1.932 \mu\text{g}$ 、 $0.280 \sim 1.680 \mu\text{g}$  与峰面积呈良好的线性关系，平均回收率为  $98.64\%$ （ $RSD 2.72\%$ ）、 $96.61\%$ （ $RSD 1.15\%$ ）和  $98.80\%$ （ $RSD 1.91\%$ ）。试验结果显示，化风丹药母中新乌头碱、次乌头碱、乌头碱的含量随发酵时间的增加而逐渐下降，发酵前，3 种生物碱总量为  $0.232 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ，发酵 70 d 后 3 种生物碱总量为  $0.103 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ；发酵 70 d 内变化较大的为新乌头碱（ $0.106$  到  $0.037 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ）和乌头碱（ $0.113$  到  $0.050 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ），乌头碱含量差别不大（ $0.013$  到  $0.009 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ），发酵前 35 d 的下降幅度较大，之后逐渐缓慢。为进一步研究药母发酵过程中对双酯型生物碱含量降低有促进作用的物质，曹国琼等<sup>[5]</sup>选择  $\alpha$ -淀粉酶、胰蛋白酶、脂肪酶、胃蛋白

酶及混合上述 4 种酶替代神曲为 5 个不同酶组，不加酶和神曲作为阴性组，原方组为阳性组，探讨神曲和不同种类酶对化风丹药母发酵过程中双酯型生物碱类成分含量的影响。试验结果显示发酵 4 周后，7 组药母样品中双酯型生物碱类成分含量均明显降低，各组均未检测到乌头碱，3 种双酯型生物碱总和降低率为  $66.67\% \sim 81.72\%$ ，其中  $\alpha$ -淀粉酶组降低率最高；多重比较显示各组间 3 种双酯型生物碱类成分含量总和存在明显差异， $\alpha$ -淀粉酶组样品中 3 种双酯型生物碱类成分含量总和显著低于原处方组，胃蛋白酶组和阴性组均显著高于原处方组，胰蛋白酶组、脂肪酶组、混合酶组与原处方组差异无统计学意义，阴性组样品中 3 种双酯型生物碱类成分含量显著高于其他 6 组。试验结果说明神曲与酶对化风丹药母发酵过程中双酯型生物碱类成分的降解具有一定促进作用， $\alpha$ -淀粉酶促进效果较为显著。

王明力<sup>[6]</sup>为完善化风丹的质量标准，控制产品质量，对化风丹的显微鉴定进行了研究。结果显示：无色菌丝体、刚毛（大）及碎片、无色透明块为僵蚕的唯一特征；体壁碎片（多绿黄色）、刚毛（小）及碎片为全蝎的唯一特征；单个石细胞（各种）、石细胞成群、梭形纤维（多成群）为苍术的唯一特征；深红色、橙红色、褐黄色块状物或颗粒为雄黄的唯一特征；单细胞非腺毛、杯状细胞为荷叶的唯一特征；多细胞非腺毛为荆芥的唯一特征；晶纤维为檀香的唯一特征；无色长方形为麝香的唯一特征；网纹导管、具缘导管、螺旋导管、环纹导管、纤维（胞腔线形）、方晶、针晶等不能作为唯一特征鉴定药材。该方法简单易行，能有效控制化风丹的质量，但需要有一定中药鉴定经验的技术人员操作。

曹国琼等<sup>[7]</sup>建立了化风丹中不溶性砷盐和可溶性砷盐的含量测定方法，为该制剂中的砷元素测定提供了参考。作者分别采用滴定法和紫外分光光度法测定 18 批化风丹中二硫化二砷和三氧化二砷的含量。实验结果显示 18 批化风丹中二硫化二砷质量分数为  $0.012 \sim 0.0213 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ ，平均质量分数为  $0.0184 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ ，批间差异系数为  $13.3\%$ ；三氧化二砷质量分数为  $75.24 \sim 124.55 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ，平均质量分数为  $92.99 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ，批间差异系数为  $15.3\%$ 。不同批次化风丹中二硫化二砷和三氧化二砷含量差异较大。砷化合物的毒性很大程度上取决于其化学形态，不同形态砷化合物毒性差异很大，对含雄黄中成药进行不同形态砷盐含量测定对制剂质量控制和临床安全用药有中药意义。石尚友等<sup>[8]</sup>对化风丹中有效成分天麻素的最佳提取方法进行了研究。作者以高效液相色谱法测定天麻素含量为指标，比较回流法和超声法的提取效果，对提取条件进行优选，发现最佳提取条件为：氯仿  $40 \text{ mL}$ ，超声提取  $40 \text{ min}$ ，弃去氯仿液，药渣挥尽氯仿，加甲醇  $40 \text{ mL}$ ，超声  $40 \text{ min}$ 。

化风丹药母中含有生半夏、生白附子、生天南星、



生川乌、朱砂等毒性中药,质量控制研究方面只有关于生川乌中乌头碱、新乌头碱、次乌头碱等 3 种毒性成分的含量测定研究。为保证药物质量,降低患者用药风险,还应增加对其他毒性中药中的毒性成分及汞元素含量测定或限量方法研究以及化风丹中有效化学成分指纹图谱研究。

### 3 毒理作用研究

雄黄和朱砂与其他中药配伍应用于临床已有上千年历史,但由于雄黄含砷,朱砂含汞,其安全性近年来引起了越来越多的关注,含雄黄和朱砂的中成药因砷、汞超标引起了民众的广泛忧虑<sup>[9]</sup>。化风丹原方(古方)中含雄黄和朱砂各 10%,现代方中虽减量为含雄黄和朱砂各 3%,但其毒理作用研究及安全性评价仍是其研究重点和热点。

#### 3.1 肝肾毒性研究

朱琼妮等<sup>[10]</sup>对万胜化风丹和氯化汞对 SD 大鼠肾汞蓄积、肾汞摄取转运体(Oat1, Oct2)、肾汞外排转运体(Mrp4, Mate2K)和肾损伤分子 1(Kim-1)的影响进行了研究。作者将 30 只雄性 SD 大鼠随机分为 5 组:万胜化风丹不含朱砂组( $1.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )、万胜化风丹现代配方组( $1.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 含 Hg  $45.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )、万胜化风丹原方组( $1.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 含 Hg  $129.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )、氯化汞组( $18 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 含 Hg  $13 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )和空白组。实验结果显示氯化汞组大鼠上述各项指标与空白组相比差异均具有统计学意义,肾毒性明显。而上述各项指标在各化风丹组差异无统计学意义,表明在万胜化风丹中减量或去掉朱砂对其肾毒性影响不大。

彭芳等<sup>[11]</sup>比较了朱砂( $0.15 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )、万胜化风丹( $0.42 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )、硫化汞( $0.15 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )、氯化汞( $0.02 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )、甲基汞( $0.001 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )的亚急性毒性作用,实验周期为 21 d。实验结果显示氯化汞引起大鼠体重明显低于对照组,肝、肾汞蓄积量明显增多;甲基汞显著的引起大鼠肝、肾、脑组织中汞蓄积增多,而万胜化风丹和朱砂组没有明显变化。然而,各组血液生化和组织病理学没有表现出显著差异。氯化汞和甲基汞均明显诱导大鼠肝脏 MT-1 mRNA 的表达。万胜化风丹、朱砂引起肝 Cyp3a2 mRNA 表达增加,而氯化汞和甲基汞抑制了 Cyp2e1 mRNA 的表达。实验结果说明万胜化风丹以临床等效剂量灌胃大鼠 3 周,对大鼠的亚急性毒性作用远低于氯化汞和甲基汞。

田兴中等<sup>[12]</sup>比较了古方化风丹( $420 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 含朱砂 10%、雄黄 10%)、万胜化风丹( $420 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 含朱砂 3%、雄黄 3%)、廖元和堂化风丹( $420 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 含朱砂 3%、雄黄 3%)、去朱砂雄黄化风丹( $420 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )、氯化汞( $\text{HgCl}_2$ ,  $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )和亚砷酸钠( $\text{NaAsO}_2$ ,  $25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )对大鼠肝肾组织的亚慢性毒性作用,实验周期为 60 d。实验结果显示氯化汞组、亚砷酸钠组大鼠在各时间段体重增长均显著低于正常组,古方化风丹组大鼠在 60 d 时体重低于正常组,其他化风丹各组大鼠体重与正常组比较差异均

无统计学意义;与正常组比较,氯化汞组大鼠血清谷丙转氨酶、乳酸脱氢酶、尿素氮、肌酐含量以及肝肾指数均明显增高,亚砷酸钠组亦有不同程度的升高,化风丹各组则与正常组无明显差异;氯化汞组(亚砷酸钠组)在大鼠肝肾组织的汞(砷)蓄积量明显升高;与正常组比较,氯化汞组及亚砷酸钠组大鼠肝脏 Kim-1, MT-2 mRNA 相对表达量均显著升高,化风丹各组方对大鼠肝脏 Kim-1 相对表达量与正常组比较差异无统计学意义;与正常组相比,氯化汞及亚砷酸钠对大鼠肾 Kim-1、MT-1 和 MMPT7 mRNA 相对表达量均呈显著的诱导作用;化风丹各组对大鼠肝脏代谢功能的影响与氯化汞、亚砷酸钠等其他含汞砷元素化合物不存在一致性。实验结果表明化风丹各组方并未引起正常大鼠肝肾组织明显的亚慢性毒性反应,或者说其亚慢性毒性作用远远低于氯化汞、亚砷酸钠;含朱砂、雄黄较多的古方化风丹对大鼠的亚慢性毒性反应与现代方并无显著差异。

颜俊文等<sup>[13]</sup>对万胜化风丹及其中的雄黄和朱砂的急性肝肾毒性进行了研究。成年昆明种小鼠分别被一次性灌胃给予万胜化风丹(原方药)  $3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、雄黄和朱砂减量的万胜化风丹(减量方药)  $3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、不含雄黄和朱砂的万胜化风丹(减方药)  $3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、雄黄  $0.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、朱砂  $0.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、亚砷酸钠  $36 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、氯化汞  $70 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 实验周期为 8 h。实验结果显示亚砷酸钠、原方药及减量方药组肝和肾组织中砷的蓄积量明显增加,且亚砷酸钠组 > 原方药组 > 减量方药组。亚砷酸钠组 ALT 显著升高,其他各组略有升高,但与正常对照组无显著差异。氯化汞和朱砂组肝肾组织中汞的蓄积量明显增加,且氯化汞组 > 朱砂组,氯化汞组同时伴 Cre、BUN 显著升高。亚砷酸钠组、氯化汞组肝肾病理损伤明显,MT-1 mRNA 在肝肾组织高表达。上述实验结果说明万胜化风丹、雄黄和朱砂的急性肝肾毒性远低于亚砷酸钠和氯化汞。

王丽娜等<sup>[14]</sup>对万胜化风丹和氯化汞对大鼠肝脏组织细胞色素 P450 酶系亚型基因的影响进行了研究。作者将雄性 SD 大鼠随机分为空白组、去朱砂雄黄万胜化风丹组( $1.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )、万胜化风丹现代方组( $1.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 含朱砂、雄黄各 3%)、万胜化风丹古方组( $1.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 含朱砂、雄黄各 10%)、氯化汞组( $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 实验周期为 7 d。实验结果显示,与空白组相比,万胜化风丹各组对 Cyp1a1、Cyp2e1、Cyp3a1、Cyp4a10 表达无明显影响,氯化汞则明显降低其表达;去朱砂雄黄万胜化风丹组大鼠肝脏 Cyp2b1 表达明显增加,差异有统计学意义,万胜化风丹现代方组与万胜化风丹古方组则无明显影响,氯化汞组则明显下降。实验表明:万胜化风丹虽含汞,但其对 CYP450 酶系基因亚型基因的影响与氯化汞不同;万胜化风丹可明显升高 Cyp3a2 基因表达,提示对药物代谢存在潜在的影响;万胜化风丹各组对 P450 酶基因的表达无明显差异,表明在万胜化风丹中减量或者去

掉朱砂对 CYP450 酶基因的影响不大。

姚淑琼<sup>[15]</sup>对硫化汞、万胜化风丹、甲基汞、氯化汞、廖元和堂化风丹等对 HL-7702 肝细胞存活率的影响进行了检测分析。实验结果显示相同汞浸出量和汞含量的廖元和堂化风丹组、万胜化风丹组、硫化汞组与正常对照组相比,对于 HL-7702 肝细胞存活率的影响差异无统计学意义,而甲基汞组、氯化汞组与正常对照组相比,差异具有统计学意义。说明相同浸出量和汞含量的廖元和堂化风丹、万胜化风丹、硫化汞对于 HL-7702 肝细胞存活率的影响小于甲基汞和氯化汞。

### 3.2 神经毒性研究

Morris 水迷宫是用于研究实验室大鼠空间学习与记忆能力以及评价神经递质系统、药物作用之间的关系的装置。田兴中等<sup>[16]</sup>采用 Morris 水迷宫法比较万胜化风丹 ( $420 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )、廖元和堂化风丹 ( $420 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )、氯化汞 ( $\text{HgCl}_2$ ,  $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 和亚砷酸钠 ( $\text{NaAsO}_2$ ,  $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 对健康 SD 大鼠神经系统的影响。实验结果显示,正常组大鼠每日训练的潜伏期在用药后呈显著下降趋势,  $\text{HgCl}_2$  组在第 2 ~ 5 日的潜伏期均显著高于正常组,提示  $\text{HgCl}_2$  的长期应用可减弱大鼠的空间记忆能力,而万胜化风丹组、廖元和堂化风丹组和  $\text{NaAsO}_2$  组与正常组的趋势相同,且差异无统计学意义,表明 2 种化风丹和  $\text{NaAsO}_2$  对大鼠空间记忆能力无明显影响。

砷和汞的毒性很大程度上取决于其化学形态及其代谢产物。不同化学形态的砷、汞化合物毒性相差成百上千倍<sup>[17]</sup>,如朱砂中的  $\text{HgS}$  为典型的共价化合物,溶解度很小,口服吸收率低于 0.2%,而氯化汞口服吸收率则达到了 12.5%,正是由于汞存在形式不同使得其吸收量大不相同,进而决定了他们毒性的明显差异<sup>[18]</sup>,因此以总砷和总汞为标准评价含朱砂、雄黄中药的安全性不够全面。其他含雄黄或朱砂的中药复方有关砷和汞形态的研究已有文献报道<sup>[19-20]</sup>。以总砷、总汞,结合砷、汞形态分析的化风丹安全性评价还有待进一步研究。

### 4 治疗作用研究

有关化风丹治疗作用研究的报道相对较少,临床开展化风丹针对于风痰闭阻、中风偏瘫、癫痫、面神经麻痹、口眼歪斜等症的治疗作用研究可更好的指导临床用药,意义重大。

李兰等<sup>[21]</sup>对化风丹对急性脑梗死的疗效及其对同型半胱氨酸 (Hcy)、内皮素 (ET)、一氧化氮 (NO) 的影响进行了研究,并对其治疗急性脑梗死可能的机制进行了探讨。作者将 60 例急性脑梗死的患者随机分成 2 组,治疗组在常规西医综合治疗基础上,加用化风丹治疗,对照组 30 例仅采用常规西医综合治疗。实验结果显示化风丹对急性脑梗死 Hcy、ET、NO 有明显干预作用,证实化风丹加西药治疗疗效优于单纯西药治疗组,疗效机制可能通过降低脑卒中高危因素 Hcy、ET,增加 NO,逆转血管内皮功能而起效,从

而促进神经功能的恢复。

陈勇<sup>[22]</sup>对化风丹治疗脑卒中的临床疗效进行了研究。作者选取 2013 年 5 月至 2013 年 10 月间入院诊治的脑卒中患者 60 例,随机分为实验组和对照组。实验组应用化风丹治疗,对照组应用常规西药硫酸氯吡格雷治疗,观察 2 组疗效和不良反应。以简式 Fugl-Meyer 运动功能量表 (FMA) 评定运动障碍严重程度,以日常生活活动能力量表 (ADL) 评定日常生活能力。实验结果显示治疗前 2 组患者的 FMA、ADL 评分无差异。治疗后,2 组差异具统计学意义,实验组 FMA、ADL 评分优于对照组,说明应用化风丹治疗脑卒中疗效显著,不良反应少,可为临床治疗脑卒中提供一定的参考。

近年研究发现小胶质细胞的激活被认为是神经炎症反应的关键所在,抑制小胶质细胞所介导的神经炎症反应将成为治疗神经系统疾病的重要靶点之一。Zhang 等<sup>[23]</sup>对小胶质细胞介导的神经炎症反应的抑制作用进行了研究,以探讨化风丹的中枢神经药理作用。作者采用原代大鼠小胶质细胞培养,通过脂多糖 (LPS) 诱导小胶质细胞激活引起神经炎症反应。细胞随机分为空白对照组、化风丹组、模型组、治疗组,并使用实时反转录聚合酶链反应 (RT-PCR) 检测细胞中炎症因子 mRNA 的表达,酶联免疫吸附实验 (ELISA) 和 Griess 实验检测细胞培养上清液中炎症因子蛋白含量的变化。实验结果显示化风丹能抑制 LPS 诱导的小胶质细胞内肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白介素-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) 和诱导型一氧化氮合酶 mRNA 的过度表达以及降低细胞培养上清液中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和一氧化氮的含量,进而说明化风丹能够抑制小胶质细胞介导的神经炎症反应。

### 5 药物代谢动力学研究

陈晓兰等<sup>[24]</sup>采用 DDC-Ag 法对中风患者服用化风丹后血、尿中砷浓度的变化情况进行了研究,在 0 ~ 20  $\mu\text{g}$  内含砷量与吸收度呈良好的线性关系。作者以化风丹为治疗药,以化风丹处方中去除含砷等药材制成的药品 (和治疗药外观一致,除雄黄外,其他去除药材不明) 为对照药,用随机双盲临床试验对 65 例中风后遗症患者用药前后血、尿中砷浓度进行测定。实验结果显示化风丹用于人体后尿中砷浓度有明显的升高,在疗程结束 3 d 后复查均达正常范围,而血砷浓度基本无变化。田兴中等<sup>[25]</sup>对万胜化风丹、朱砂和硫化汞中汞元素在大鼠体内吸收、分布及排泄的特征进行了研究。作者将清洁级 Wistar 大鼠分别一次性灌胃给予万胜化风丹 ( $4.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 汞含量  $1.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )、朱砂 ( $1.42 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 汞含量  $1.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 和硫化汞 ( $1.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 汞含量  $1.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 并设空白对照组 (生理盐水), 记录时间取血、尿液及各脏器组织。实验结果显示:与空白对照组比较,给药 1 h 后各组血液中汞含量升高,万胜化风丹组血液中汞含量显著高于其他各组;与空白对照组比较,各给药组在组织中汞含



量均升高,万胜化风丹组更为显著;朱砂组肾组织中的汞含量亦有显著升高;各给药组尿液中汞含量均较正常组高,以万胜化风丹组更为显著。万胜化风丹组在粪便中的汞含量于 8、12、24 h 这 3 个时间点显著低于朱砂组和硫化汞组,与空白对照组比较差异无统计学意义。上述实验结果说明万胜化风丹可促进汞元素进入机体,并在短期内主要分布于肝肾组织中。

关于化风丹药物代谢动力学研究文献报道很少,患者服用化风丹后,砷、汞元素在人体的吸收、分布、代谢和排泄等药物代谢动力学数据尚未见文献报道,治疗周期内砷、汞元素在体内的蓄积情况以及停药后体内砷、汞元素恢复正常浓度的时间尚属未知,有待进一步研究。

## 6 药效物质基础研究

向文英等<sup>[26]</sup>对化风丹血清药物化学进行研究,初步探讨其药效物质基础。作者采用超高效液相色谱-飞行时间质谱联用法,同时建立化风丹提取物以及大鼠灌胃给予化风丹( $6\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )、药母( $1.37\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )、药母阴性样品( $5.73\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )提取物后含药血清的指纹图谱,分别在正、负离子检测模式下通过比较化风丹和含药血清的指纹图谱,初步鉴定化风丹在大鼠血中移行成分及其代谢产物。实验结果显示在负离子模式下含药血清中共发现 8 个药源性成分,多为黄酮类化合物,其中 6 个来自药母,分别为柠檬酸、芹菜素-7-O-二葡萄糖醛酸苷、木樨草素-7-O-二葡萄糖醛酸苷、芹菜素-7-O-二葡萄糖醛酸苷和迷迭香酸等;派立辛与另一未鉴定化合物来自其他中药。在正离子模式下含药血清中共发现 9 个药源性成分,多为生物碱类化合物,其中 6 个来自药母,分别为多根乌头碱、附子宁碱、塔拉乌头胺及 3 个未鉴定化合物;新乌头原碱、准葛尔乌头碱与一个未鉴定化合物来自其他中药。上述实验结果初步确定了化风丹的入血成分,其入血成分主要来自药母。

## 7 不良反应研究

金江等<sup>[27]</sup>报道一位 19 岁男性患者因癫痫服用卡马西平和化风丹半年后,于胸背部出现皮肤色素加深并有色素减退斑,双侧掌趾皮肤变硬而入院。经检查发现血砷浓度为  $36.2\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,尿砷浓度为  $2120.7\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,发砷量为  $10.3\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ,指甲砷含量为  $37.8\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ,皮肤砷含量  $12.3\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。皮肤组织病理学检查显示掌趾部皮疹表示表皮角化亢进,颗粒层增厚,棘层肥厚,真皮浅层少量单一核细胞浸润。躯干部皮疹表示表皮轻度角化亢进,棘层可见坏死角朊细胞,表皮真皮交界面灶性空泡变性,真皮浅层少量嗜黑素细胞。经诊断为慢性医源性砷中毒。陈茂招<sup>[28]</sup>报道一位 22 岁男性患者,因疑似癫痫服用化风丹长达 2 年之久。第 1 年用量为 20 片/日,服用 1 年后减至 8 片/日。因出现颜面、颈部、躯干、大腿部色素沉着且伴有高出皮肤的小黑点,双手掌脚掌出现皮肤增厚、脱屑症状而就诊。根据相关检查及服药史、临床表现,被诊

断为慢性砷中毒。

黄海滨<sup>[29]</sup>报道了口服化风丹致白细胞减少 1 例。患者为 80 岁男性,患帕金森病 15 年,服用化风丹 4 个月,开始每次 8 粒,每日 3 次,2 个月后改为每次 8 粒,每日 2 次。入院时血常规检查显示白细胞为  $2.3\times 10^9\cdot\text{L}^{-1}$ ,因考虑该药是否与白细胞减少有关,停用化风丹并加用利血生、鲨肝醇治疗,其余药物正常服用。2 周后复查血常规显示白细胞数为  $3.8\times 10^9\cdot\text{L}^{-1}$ ,2 个月后白细胞数升至  $5.3\times 10^9\cdot\text{L}^{-1}$ ,其后每隔 1 个月复查 1 次,连续 3 次血常规检查,白细胞数均在正常范围。之后患者又自行口服化风丹约一个半月,因感觉全身乏力就诊,血常规检查显示白细胞数为  $2.7\times 10^9\cdot\text{L}^{-1}$ ,停用化风丹并按前次方案治疗,白细胞又恢复正常。本例患者 2 次白细胞减少均在服用化风丹期间发生,停药后恢复正常,当属化风丹引起白细胞减少无疑。但其发生机制尚不清楚。

化风丹中含有等量的雄黄和朱砂,而只有关于砷中毒的不良反应报道,汞中毒的情况未见文献报道。分析原因可能与砷和汞在胃肠道中的溶出率有关。有文献报道含雄黄中药,如牛黄消炎片、小儿化毒散中的砷在胃肠液中的溶出率为 1%~4%,而含朱砂中药,如一捻金、小儿金丹片中的汞在胃肠液中的溶出率仅为 0.004%~0.01%<sup>[30]</sup>。砷和汞在胃肠液中溶出率的巨大差异,导致砷相对于汞被机体吸收的更多,从而加大了砷不良反应的可能性。

## 8 结语

综上所述,近年来化风丹在制剂工艺、质量控制、毒理作用、治疗作用、药物代谢动力学、药效物质基础及不良反应等方面的研究已经取得了一定的进展,但也存在一些不足和研究空间。另外,因化风丹中含有较多味毒性中药,医师需严格按照说明书剂量开具医嘱,患者需严格按照医嘱服药,以避免药物不良反应的发生。

化风丹药母中含有生半夏、生白附子、生天南星、生川乌、朱砂等毒性中药,质量控制研究方面只有关于生川乌中乌头碱、新乌头碱、次乌头碱等 3 种毒性成分的含量测定研究。为保证药物质量,降低患者用药风险,还应增加对其他毒性中药中的毒性成分及汞元素含量测定或限量方法研究以及化风丹中有效化学成分指纹图谱研究。

有关化风丹治疗作用研究的报道相对较少,临床开展化风丹针对于风痰闭阻、中风偏瘫、癫痫、面神经麻痹、口眼歪斜等症的治疗作用研究可更好的指导临床用药,意义重大。患者服用化风丹后,砷、汞元素在人体的吸收、分布、代谢和排泄等药物代谢动力学数据尚未见文献报道,治疗周期内砷、汞元素在体内的蓄积情况以及停药后体内砷、汞元素恢复正常浓度的时间尚属未知。

中药复方多成分、多靶点、整体调节的特性使得合适的药效指标的寻找、药效物质的确定一直是其研

究的难点。化风丹中有 21 味中药, 关于其药效物质基础研究只有一篇文献报道。网络药理学通过建立网络模型, 可以将复杂生物系统的相互作用抽象表达成网络, 通过分析复杂网络的成分关系和特性来获得对生物系统整体上的认识<sup>[31]</sup>。可以尝试将基因组学、蛋白质组学和代谢组学等系统生物学研究手段以及网络药理学应用于化风丹药效物质基础的研究。

## 参考文献

- [1] 刘颖. 史云廖氏化风丹[J]. 文化月刊, 2015, 16: 80-83.
- [2] 贵州万胜药业有限责任公司, 遵义廖元和堂药业有限公司. 一种化风丹药母的发酵制备方法: 中国, CN 103948816 A [P]. 2014-07-30.
- [3] 曹国琼, 张永萍, 徐剑, 等. 化风丹药母干燥工艺的研究[J]. 中国民族医药杂志, 2012, 7 (7): 38-40.
- [4] 曹国琼, 张永萍, 徐剑, 等. 高效液相色谱法测定化风丹药母中 3 种双酯型生物碱含量[J]. 贵州农业科学, 2014, 42 (11): 58-61.
- [5] 曹国琼, 张永萍, 徐剑, 等. 神曲与酶对化风丹药母发酵过程中毒性成分的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21 (4): 1-4.
- [6] 王明力. 化风丹的显微鉴定[J]. 贵阳医学院学报, 2003, 28 (4): 356-357.
- [7] 曹国琼, 张永萍, 徐剑, 等. 化风丹中  $As_2S_3$  及  $As_2O_3$  的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21 (7): 54-56.
- [8] 石尚友, 冯华, 邹孔强, 等. 化风丹中天麻素的提取方法研究[J]. 现代中药研究与实践, 2011, 25 (2): 50-51.
- [9] 刘杰, 陆远富, 时京珍, 等. 含朱砂、雄黄的中成药, 是药还是毒?[J]. 成都医学院学报, 2011, 6 (4): 363-369.
- [10] 朱琼妮, 陆远富, 时京珍, 等. 含朱砂的万胜化风丹和氯化汞对大鼠肾转运体、肾汞蓄积和 Kim-1 表达的影响[J]. 中国中药杂志, 2014, 39 (10): 1892-1896.
- [11] 彭芳, 杨虹, 吴芹, 等. 万胜化风丹对大鼠亚急性毒性的研究[J]. 中国中药杂志, 2012, 37 (7): 1017-1022.
- [12] 田兴中, 付中祥, 隋怡, 等. 化风丹对大鼠的亚慢性肝肾毒性研究[J]. 亚太传统医药, 2016, 12 (19): 5-11.
- [13] 颜俊文, 苗加伟, 何海洋, 等. 万胜化风丹、雄黄和朱砂的急性肝肾毒性作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2011, 25 (4): 380-385.
- [14] 王丽娜, 刘富鑫, 吴芹, 等. 万胜化风丹对大鼠肝脏 CYP450 酶系亚型基因的影响[J]. 黔南民族医学学报, 2015, 28 (3): 157-160.
- [15] 姚淑琼. 对比分析朱砂、含朱砂复方对人肝细胞毒性的影响[J]. 海峡药学, 2015, 27 (8): 31-32.
- [16] 田兴中, 凌晓红, 李艺锋, 等. Morris 水迷宫法探讨化风丹对大鼠空间记忆能力的影响[J]. 亚太传统医药, 2014, 10 (8): 12-13.
- [17] 陆远富, 时京珍, 石京山, 等. 科学评价含雄黄、朱砂中成药的安全性[J]. 中国中药杂志, 2011, 36 (24): 3402-3405.
- [18] 付中祥, 杨虹, 陈秀芬, 等. 朱砂、朱砂安神丸及氯化汞在小鼠体内吸收、分布对比[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19 (1): 162-166.
- [19] 金鹏飞, 夏路风, 梁晓丽, 等. 高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱研究牛黄解毒片在水和胃肠液中溶出物的形态[J]. 中国药理学杂志, 2013, 48 (24): 2162-2165.
- [20] Jin PF, Liang XL, Xia LF, et al. Determination of 20 trace elements and arsenic species for a realgar-containing traditional Chinese medicine Niu Huang Jie Du tablets by direct inductively coupled plasma-mass spectrometry and high performance liquid chromatography inductively coupled plasma-mass spectrometry[J]. J Trace Elem Med Bio, 2016, 33 (1): 73-80.
- [21] 李兰, 郭军, 吕波. 化风丹治疗急性脑梗死效果的对比性分析[J]. 贵阳中医学院学报, 2013, 35 (6): 10-13.
- [22] 陈勇. 化风丹治疗脑卒中的疗效观察[J]. 中国医药指南, 2013, 11 (34): 232-233.
- [23] Zhang F, Lu YF, Wu Q, et al. Role of cinnabar and realgar of WSHFD in protecting against LPS-induced neurotoxicity[J]. J Ethnopharmacol, 2012, 139 (3): 822-828.
- [24] 陈晓兰, 徐剑, 陈庆. DDC-Ag 法测定中风病人服用化风丹后血、尿中的砷含量[J]. 贵阳中医学院学报, 2005, 27 (4): 59-61.
- [25] 田兴中, 何海洋, 刘杰, 等. 朱砂与朱砂复方中汞元素在大鼠体内的吸收分布和排泄[J]. 时珍国医国药, 2015, 26 (5): 1106-1108.
- [26] 向文英, 杨武, 梅朝叶, 等. 化风丹血清药物化学的初步研究[J]. 中国药房, 2016, 27 (28): 3911-3914.
- [27] 金江, 蔡琦, 张建中. 医源性慢性砷中毒 2 例报告[J]. 中国药物应用与监测, 2005, 2 (5): 46.
- [28] 陈茂招. 自服某化风丹致慢性砷中毒 1 例报告[J]. 职业卫生与应急救援, 2004, 22 (4): 222.
- [29] 黄海滨. 口服化风丹致白细胞减少 1 例[J]. 新医学, 2005, 36 (10): 569.
- [30] 王辰洋. 含雄黄朱砂中成药中的砷汞元素的测定与研究[D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2015.
- [31] 刘群, 吕超, 张卫东, 等. 麝香保心丸研究进展[J]. 中草药, 2016, 47 (8): 1409-1417.

(收稿日期: 2016-12-28; 修回日期: 2017-05-25)