

佐太及珍宝类藏成药中汞在大鼠体内的蓄积研究

张炜¹, 刘海青², 骆桂法^{1*}, 金红宇³, 杨凤梅¹, 刘亚蓉¹, 张玉臣¹ (1. 青海省药品检验检测院/青海省中藏药现代化研究重点实验室, 西宁 810003; 2. 青海省食品药品监督管理局药品审评中心, 西宁 810007; 3. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

摘要 **目的:** 通过给SD大鼠灌胃服用不同剂量和不同时间的佐太及含佐太复方制剂, 探索研究血液和主要器官中总汞和不同价态汞的蓄积情况, 为临床用药提供参考依据。**方法:** 采用原子荧光法(光电倍增管负高压270 V, 原子化器高度10 mm, 载气流量400 mL·min⁻¹, 屏蔽气流量800 mL·min⁻¹, 灯电流20 mA)及高效液相色谱串联电感耦合等离子体质谱法(射频功率1420 W, 射频电压1.79 V, 载气体积流量1.10 L·min⁻¹, 蠕动泵流速0.1 r·s⁻¹, 氦反应碰撞模式, Hypersil gold C₁₈色谱柱, 柱温30 ℃, 流动相为含0.06 mol·L⁻¹乙酸铵和1 g·L⁻¹半胱氨酸的5%甲醇-水溶液, 流速1.0 mL·min⁻¹)测定大鼠血清、血浆、全脑、肝脏、肾脏中总汞及甲基汞、乙基汞、无机汞的蓄积量。将60只SD大鼠随机分为空白组、佐太常剂量短期组(15 d, 4.93 mg·kg⁻¹)、常剂量长期组(30 d, 4.93 mg·kg⁻¹)、高剂量长期组(30 d, 98.60 mg·kg⁻¹)和2个复方制剂组(30 d, 15.25~16.66 mg·kg⁻¹), 给药完成后测定大鼠血液和主要器官中总汞和不同价态汞的含有量。**结果:** 对照空白组结果, 给予15 d常规剂量佐太, 血清、血浆、全脑和肝脏中总汞量有所增加, 但无显著性差异, 肾脏中总汞含量显著增加; 给予30 d常规和高剂量佐太, 全脑、肝脏和肾脏中总汞含量显著增加, 血清、血浆中总汞量有所增加, 但无显著性差异; 给予30 d常规剂量含佐太复方制剂后, 肾脏中总汞含量显著增加, 血液和其他器官无显著性差异。各组别大鼠血液和主要器官中以无机汞为主, 血浆和肾脏中含有少量甲基汞, 各部位均未检出乙基汞。**结论:** 大鼠灌胃给予佐太和含佐太珍宝类藏成药后, 汞在肾脏、肝脏中和脑组织中产生蓄积, 蓄积汞的形态多为二价无机汞, 提示服用佐太及含佐太的珍宝类藏成药制剂时应控制剂量和服用周期。

关键词: 佐太; 七十味珍珠丸; 坐珠达西; 汞; 蓄积

中图分类号: R917; R284.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-7777(2020)02-0195-07
doi:10.16153/j.1002-7777.2020.02.008

On Mercury Accumulation of Zuotai and Precious Tibetan Medicines in Rats

Zhang Wei¹, Liu Haiqing², Luo Guifa^{1*}, Jin Hongyu³, Yang Fengmei¹, Liu Yarong¹, Zhang Yuchen¹ (1. Qinghai Provincial Drug Inspection and Testing Institute/ Qinghai Key Lab for Modernization Research of Traditional Chinese and Tibetan Medicines, Xining 810003, China; 2. Food and Drug Review Center of Qinghai Food and Drug Administration, Xining 810007, China; 3. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

Abstract Objective: To explore the accumulation of total mercury and mercury of different valences in blood

基金项目: 青海省科技计划项目(编号 2017-ZJ-Y40, 2018-ZJ-T06)

作者简介: 张炜, 主管药师; 研究方向: 民族药药物分析及质量控制; Tel: (0971) 8215400; E-mail: 32682484@qq.com

通信作者: 骆桂法, 主任药师, 硕士; 研究方向: 民族药药物分析及质量控制; Tel: (0971) 8232419; E-mail: luoguifa-zys@163.com

and major organs of rats and provide references for clinical medication after Zuotai and compound preparations containing Zuotai were orally administrated with different doses and duration. **Methods:** The atomic fluorescence method (photomultiplier tube negative pressure was 270 V, atomization device-height was 10 mm, the carrier flow was $400 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, shielding gas flow was $800 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, lamp current was 20 mA) and HPLC-ICP-MS (radio-frequency power was 1420 W, radio-frequency voltage was 1.79 V, the carrier flow was $1.10 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$, peristaltic pump flow was $0.1 \text{ r} \cdot \text{s}^{-1}$ with Helium collision mode. The separation was performed on Hypersil gold C_{18} column with column temperature of 30°C and mobile phase composed of 5% methanol aqueous solution containing $0.06 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ammonium acetate and $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ cysteine at the flow rate of $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, the column temperature was at 30°C) were used to determine the accumulation of total mercury, methylmercury, ethyl mercury and inorganic mercury in serum, plasma, brain, liver, and kidneys of SD rats. 60 SD rats were randomly divided into the blank group, the short-term group of Zuotai conventional dose (15 d, $4.93 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), the long-term group of conventional dose (30 d, $4.93 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), the high-dose long-term group (30 d, $98.60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) and two compound preparation groups (30 d, $15.25\text{-}16.66 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). The contents of total mercury and mercury of different valences in blood and major organs of rats were measured after administration. **Results:** Compared with the blank group, the content of total mercury in serum, plasma, brain and liver of rats in the short-term group of Zuotai conventional dose increased, but there was no significant difference. The content of total mercury in the kidneys increased significantly. The content of total mercury in the whole brain, liver and kidneys of rats in the long-term group of conventional dose and the high-dose long-term group significantly increased. The content of the total mercury in serum and plasma increased, but there was no significant difference. The content of total mercury in the kidneys of the rats in the two compound preparation groups significantly increased, and there was no significant difference in blood and other organs. Most of the mercury in the blood and major organs of rats in each group belonged to inorganic mercury. There was a small amount of methyl mercury in plasma and kidneys, and ethyl mercury was not detected in all parts. **Conclusion:** Mercury can be accumulated in kidneys, liver and brain of rats after Zuotai and the precious Tibetan medicines containing Zuotai are orally administrated. The main form of the accumulated mercury is divalent inorganic mercury, which suggests that the dose and duration should be controlled when Zuotai and the precious Tibetan medicines containing Zuotai are administarted.

Keyword: Zuotai; Qishiwei Zhenzhu Pill; Zuozhudaxi; mercury; accumulation

佐太是藏语“仁青欧曲佐珠钦木”的简称，又译“佐台”（卫藏、安多语）、“佐塔”（康巴语）^[1]。“佐”是炼制，“太”指灰、粉末，意思是煅烧成灰，也就是水银加以多种辅助药物，经过洗、涤、煮等多道复杂的传统炮制工艺，去垢、去锈、除汞毒，然后加以多种重金属，煅炭存性而制成的水银灰药，谓之佐太。现代研究^[2]表明，佐太主要成分为硫化汞（ HgS ），单味佐太只作外用，不能直接内服，内服必须与能中和、抑制其毒性和具有其他治疗功用的众多药物配制成方剂^[3]。

藏医^[4]认为佐太具有调血、生肌健脾、滋补强生的功效，其复方制剂多用于治疗中毒、中风、麻痹病、阳痿、高血压、神经系统及心血管障碍、肝胆胃肠疾病和肿瘤等症。以佐太为主要原料配制的

珍宝类藏成药有七十味珍珠丸、仁青芒觉、仁青常觉、七十味松石丸等十余种。

本文应用原子荧光法（AFS）及高效液相色谱串联电感耦合等离子体质谱法（HPLC-ICP-MS）等现代药物分析技术，以SD大鼠为受试动物，给予不同剂量和不同时间的佐太和含佐太珍宝类藏成药后，测定大鼠血细胞、血浆、肝脏、肾脏及脑部总汞和甲基汞（MMC）、乙基汞（EMC）、无机汞（MC）等不同价态汞的水平，从而揭示佐太及含佐太珍宝类藏成药中汞在大鼠体内蓄积的情况，以期为进一步科学、更安全的临床用药提供参考依据。

1 材料

1.1 实验动物

SPF级SD大鼠，雌雄各半，体质量90~110 g，

购买于湖南斯莱克景达实验动物有限公司, 许可证号 SCXK (湘) 2016-0002, 饲养于 SPF 级动物房内。

1.2 仪器

AFS-9230型全自动内置式顺序注射原子荧光光度计(北京吉天仪器有限公司); HAF汞砷高性能原子荧光光谱分析用空心阴极灯(北京有色金属研究总院); 1100型高效液相色谱仪(安捷伦公司); 7500Ce型电感耦合等离子体质谱仪(安捷伦公司); Milli-Q超纯水系统(默克密理博公司); MARS6高通量密闭微波消解系统(CEM公司); BHW-09C型恒温加热消解仪(上海博通化学科技有限公司); 低速大容量离心机(Sigma公司); Q250DE超声波清洗器(昆山舒美超声仪器有限公司); BSA224 S-CW型电子天平(赛多利斯公司); XS105DU型电子天平(赛多利斯公司)。

1.3 试剂与试剂

硝酸、盐酸、氢氟酸、甲醇购于德国Merck公司, 硼氢化钾、氢氧化钾、L-半胱氨酸($\geq 98\%$)购自西陇化工股份有限公司, 羧甲基纤维素钠(CMC)购自国药集团化学试剂有限公司, 均为分析纯; 甲基汞(MMC)标准溶液(编号GSB 07-1503-2002, 浓度 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)、乙基汞(EMC)标准溶液(编号GSB 07-1504-2002, 浓

度 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)、无机汞(MC)标准溶液(编号GSB 07-1274-2000, 浓度 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)、汞单元素标准溶液(编号GSB 04-1729-2004, 浓度 $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 均购于国家有色金属及电子材料分析测试中心。

佐太(无批号, 500 g/袋)、七十味珍珠丸(批号20170224, 1 g/丸)、坐珠达西(批号20170332, 1 g/丸)均购自金诃藏药股份有限公司。

2 方法

2.1 动物给药方式

60只SD大鼠, 雌雄各半, 随机分为6组, 每组10只, 分别为空白组、佐太常剂量短期给药组[15 d , $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (临床等效剂量)]、佐太常剂量长期给药组[30 d , $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (临床等效剂量)]、佐太高剂量长期给药组[30 d , $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (临床20倍等效剂量)]、七十味珍珠丸常剂量长期给药组[30 d , $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (临床等效剂量)]、坐珠达西常剂量长期给药组[30 d , $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (临床等效剂量)]。佐太及其制剂研磨成细粉, 以1% CMC (V/V) 制成不同浓度混悬液灌胃, 每日灌胃给药1次, 给药体积为每只 2 mL , 空白组给与1% CMC, 各组给药量和给药时间程序见表1。

表1 大鼠给药程序表 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

分组	给药量 / ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	给药时间 / d	每日给药体积 / mL
空白组	/	/	/
佐太常剂量短期组	4.93	15	2
佐太常剂量长期组	4.93	30	2
佐太高剂量长期组	98.60	30	2
七十味珍珠丸常剂量长期组	16.66	30	2
坐珠达西常剂量长期组	15.25	30	2

2.2 动物组织取样

每组大鼠末次给药结束后, 禁食 12 h , 摘除眼球后取血, 血样室温放置 1 h 后, 离心 10 min ($5000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$), 分离血清和血浆; 同时剖取全脑、左右肾脏、肝脏组织, 以上取样部位匀浆后置于EP

离心管内, $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存待测。

2.3 标准曲线的配制

将 $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 汞单元素标准溶液配制成 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 标准储备液, 用稀释液(含1%盐酸、2%硝酸和1%甲醇的混合溶液)配制浓度为0.2、0.5、

1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的总汞标准溶液。

将10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 甲基汞、乙基汞标准溶液和100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 无机汞标准溶液,配制成1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 混合标准储备液,用稀释液(含1%盐酸、2%硝酸和1%甲醇的混合溶液)配制浓度为0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、20.0、50.0、100.0 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的价态汞混合标准溶液。

2.4 供试品溶液的制备

2.4.1 总汞供试品溶液

精密称取各组别的大鼠血清、血浆、全脑、肝脏、肾脏匀浆液约0.5 g,置耐压高温微波消解罐中,加硝酸7 mL,氢氟酸0.5 mL,恒温加热消解仪120 $^{\circ}\text{C}$ 预消解1 h,降至室温,装入微波消解仪中,按设定程序进行消解(经15 min,从室温升到150 $^{\circ}\text{C}$,保持5 min;经5 min,从150 $^{\circ}\text{C}$ 升到190 $^{\circ}\text{C}$,保持30 min),消解完毕后冷却至室温,将消解液转移置25 mL量瓶中,用超纯水稀释至刻度,混匀,同法制备试剂空白溶液。

2.4.2 价态汞供试品溶液

精密称取各组别的大鼠血清、血浆、脑、肝脏、肾脏匀浆液0.5 g,精密加入5 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸10 mL,微波萃取10 min(80 $^{\circ}\text{C}$,功率800 W),离心10 min(8000 $\text{rpm} \cdot \text{min}^{-1}$),收集上清液,用氨试液调节pH至7.0,转移置25 mL量瓶中,用超纯水稀释至刻度,用0.45 μm 滤膜过滤。

2.4.3 价态汞提取方法的选择

将大鼠血细胞、血浆、肝脏、肾脏及脑部样品分别经微波萃取法(800 W, 80 $^{\circ}\text{C}$, 10 min)、

水浴恒温振摇法(37 $^{\circ}\text{C}$ 振摇30 min, 70 $^{\circ}\text{C}$ 振摇30 min)提取,同时对2% (V/V) HNO_3 、1 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸、5 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸等提取溶剂进行了考察。结果各方法下二价汞测定结果基本一致,而有机汞采用微波萃取法测定结果相对较高且稳定,最终采用5 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸经微波萃取(800 W, 80 $^{\circ}\text{C}$, 10 min)进行提取。

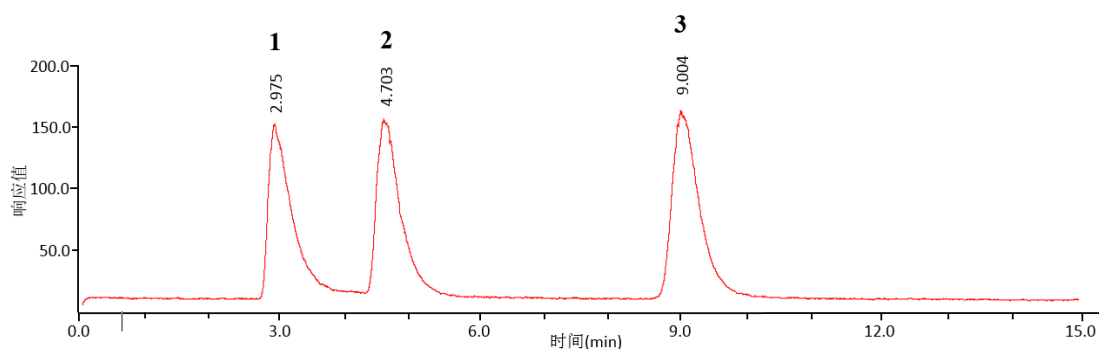
2.5 测定方法

2.5.1 总汞^[5-6]

将“2.3”节下总汞标准溶液和“2.4.1”节下各供试品溶液注入原子荧光光度计分析测定。光电倍增管负高压270 V,原子化器高度10 mm,载气流量400 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$,屏蔽气流量800 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$,灯电流20 mA。汞线性范围0~10.0 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,回归系数0.9992,检出限0.02 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,精密度试验结果2.6% ($n=6$),加样回收率平均值90.3% ($n=6$),供试品溶液中汞在12 h内稳定。

2.5.2 价态汞^[7]

将“2.3”节下价态汞混合标准溶液和“2.4.2”节下各供试品溶液注入高效液相串联电感耦合等离子体质谱仪分析测定。射频功率1420 W,射频电压1.79 V,载气体积流量1.10 $\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$,蠕动泵流速0.1 $\text{r} \cdot \text{s}^{-1}$,氦反应碰撞模式, Hypersil gold 反相色谱柱(4.6 mm $\times$ 150 mm, 5 μm),柱温30 $^{\circ}\text{C}$,流动相为含0.06 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙酸铵和1 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 半胱氨酸的5%甲醇-水溶液(体积百分数),流速1.0 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。采用上述试验条件价态汞混合标准溶液(50 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)中的二价汞、甲基汞、乙基汞色谱分离图见图1。



1. 二价汞; 2. 甲基汞; 3. 乙基汞。

图1 标准溶液中二价汞、甲基汞、乙基汞色谱图

甲基汞线性范围为 $0 \sim 100.0 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, 回归系数 0.9991 , 检出限 $0.2 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 精密度试验结果 4.4% ($n=6$), 加样回收率平均值 89.9% ($n=6$)。乙基汞线性范围均为 $0 \sim 100.0 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, 回归系数 0.9995 , 检出限 $0.3 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 精密度试验结果 3.2% ($n=6$), 加样回收率平均值 90.4% ($n=6$)。无机汞线性范围均为 $0 \sim 100.0 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, 回归系数 0.9996 , 检出限 $0.2 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 精密度试验结果 5.4% ($n=6$), 加样回收率平均值 87.2% ($n=6$)。

2.6 数据统计分析^[8]

总汞和价态汞测定结果均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 数据经SPSS 23.0软件统计分析, 采用单因素方差 (one-way ANOVA) 分析, 多重比较分析法 (Tukey), 或者采用库鲁斯卡尔-沃利斯单因素方差 (Kruskal-Wallis one-way ANOVA) 分析, $P > 0.05$ 表示无显著性差异, $P < 0.05$ 表示存在显著性差异, $P < 0.01$ 表示极显著性差异。

3 结果

3.1 大鼠血清及血浆中总汞的蓄积

与空白组相比, 佐太高剂量长期组血清中总汞含量显著增加 ($P < 0.05$), 佐太常剂量短期组和长期组、七十味珍珠丸和坐珠达西常剂量长期组血清中总汞含量有所增加, 但无显著性差异 ($P >$

0.05); 与空白组相比, 佐太常剂量短期组、佐太常剂量和高剂量长期组、七十味珍珠丸和坐珠达西常剂量长期组血浆中总汞含量有所增加, 但无显著性差异 ($P > 0.05$), 实验数据见表2。

3.2 大鼠肝、肾、脑中总汞的蓄积

与空白组相比, 佐太常剂量、高剂量长期组大鼠全脑、肝脏中总汞含量显著增加 ($P < 0.01$), 佐太常剂量短期组、七十味珍珠丸和坐珠达西常剂量长期组大鼠全脑、肝脏中总汞含量无显著性差异 ($P > 0.05$); 与空白组相比, 佐太常剂量短期组、常剂量长期组、高剂量长期组、七十味珍珠丸和坐珠达西常剂量长期组大鼠肾脏中总汞含量均有极显著增加 ($P < 0.01$), 为大鼠体内蓄积汞的主要器官, 实验数据见表2。

3.3 大鼠血清及血浆中价态汞的蓄积

各组别大鼠血清和血浆中价态汞的分布以无机汞为主, 血清中均未检出甲基汞和乙基汞, 血浆中未检出乙基汞。与空白组相比, 佐太常剂量短期组、常剂量和高剂量长期组、七十味珍珠丸、坐珠达西常剂量长期组大鼠血浆中甲基汞含量有少量增加, 但无显著性差异 ($P > 0.05$); 各组别血清和血浆中无机汞含量也有少量增加, 无显著性差异 ($P > 0.05$), 实验数据见表3和表4。

表 2 大鼠血液和主要器官中总汞的蓄积情况 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

分组	血清 / ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	血浆 / ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	脑 / ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	肝脏 / ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	肾脏 / ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)
空白组	21.57 ± 3.19	29.45 ± 1.42	4.32 ± 1.53	5.25 ± 1.00	21.32 ± 3.57
佐太常剂量短期组 (15 d)	22.58 ± 3.66	29.07 ± 5.48	5.51 ± 1.20	6.48 ± 1.18	$66.78 \pm 14.23^{**}$
佐太常剂量长期组 (30 d)	25.25 ± 1.58	30.70 ± 6.35	$7.90 \pm 1.13^{**}$	$8.84 \pm 1.03^{**}$	$122.67 \pm 18.73^{**}$
佐太高剂量长期组 (30 d)	$26.84 \pm 4.79^{*}$	31.39 ± 4.84	$9.86 \pm 1.12^{**}$	$10.74 \pm 1.33^{**}$	$167.64 \pm 19.36^{**}$
七十味珍珠丸常剂量长期组 (30 d)	21.88 ± 3.69	25.44 ± 4.85	5.19 ± 1.05	6.51 ± 1.43	$69.33 \pm 14.32^{**}$
坐珠达西常剂量长期组 (30 d)	23.53 ± 4.13	28.68 ± 7.92	4.52 ± 0.79	5.59 ± 1.08	$59.65 \pm 13.12^{**}$

注: 与空白组比较, $^{*} P < 0.05$, $^{**} P < 0.01$ 。

表3 大鼠血液和主要器官中甲基汞的蓄积情况 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

分组	血清 / ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	血浆 / ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	脑 / ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	肝脏 / ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	肾脏 / ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)
空白组	0	2.57 ± 0.70	0	0	1.06 ± 0.43
佐太常剂量短期组 (15 d)	0	2.88 ± 1.17	0	0	$2.56 \pm 0.99^{**}$
佐太常剂量长期组 (30 d)	0	2.95 ± 0.82	0	0	$2.46 \pm 0.67^{*}$
佐太高剂量长期组 (30 d)	0	3.07 ± 0.71	0	0	$4.54 \pm 1.41^{**}$
七十味珍珠丸常剂量长期组 (30 d)	0	2.56 ± 0.61	0	0	$2.40 \pm 1.03^{*}$
坐珠达西常剂量长期组 (30 d)	0	2.26 ± 0.69	0	0	2.19 ± 0.72

注: 与空白组比较, $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ 。

表4 大鼠血液和主要器官中二价无机汞的蓄积情况 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

分组	血清 / ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	血浆 / ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	脑 / ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	肝脏 / ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	肾脏 / ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)
空白组	15.60 ± 2.20	13.59 ± 2.38	2.13 ± 0.68	$2.52 \pm 0.74^{**}$	$12.39 \pm 2.00^{**}$
佐太常剂量短期组 (15 d)	17.08 ± 5.89	14.38 ± 2.34	2.25 ± 0.73	$6.76 \pm 1.22^{**}$	$40.30 \pm 6.35^{**}$
佐太常剂量长期组 (30 d)	19.34 ± 5.65	15.99 ± 2.56	2.36 ± 0.84	$8.82 \pm 1.16^{**}$	$69.53 \pm 14.06^{**}$
佐太高剂量长期组 (30 d)	21.30 ± 7.25	17.45 ± 6.48	2.52 ± 0.74	$11.88 \pm 2.17^{**}$	$82.23 \pm 12.98^{**}$
七十味珍珠丸常剂量长期组 (30 d)	19.26 ± 4.07	14.80 ± 2.65	1.83 ± 0.53	$6.48 \pm 1.18^{**}$	$62.58 \pm 11.45^{**}$
坐珠达西常剂量长期组 (30 d)	15.44 ± 3.11	15.72 ± 3.50	1.41 ± 0.39	$5.59 \pm 1.08^{**}$	$55.45 \pm 9.14^{**}$

注: 与空白组比较, $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ 。

4 讨论

佐太是藏药中的珍宝药物, 主要以水银、硫磺加以多种配方药味, 经特殊炮制工艺炼制而成^[9-10]。藏医药学突出特点是将纯金属元素和矿物质经过传统加工炮制后入药, 尤其是珍宝类藏药成方制剂, 如二十五味珊瑚丸、二十五味珍珠丸、七十味珍珠丸、仁青芒觉等大量使用矿物药材佐太、朱砂等。汞作为对人体有害元素, 是各国药品、食品及环境领域重点监测的对象, 因此, 藏药成方制剂中使用重金属汞、砷等重金属加工炮制品的藏药材, 不可避免地成为藏药安全性评价研究的重点, 不仅是质量标准制定和临床合理使用中面临的难题, 而且也极大地制约藏药推广, 同时也成为社会各界高度关注的重要问题^[11]。

佐太中的汞主要是以HgS形式存在, 无单质态

汞存在, HgS难溶于水和有机溶剂, 不易被人体吸收^[12-14]。不同的元素价态由于具有不同的物理化学性质和生物活性, 在环境和生命科学领域发挥着不同的作用, 如甲基汞和乙基汞的毒性要远高于无机汞, 并且具有极强的生物亲和力, 无机汞易于在生物体内富集并转化为甲基汞^[15-16]。根据传统分析方法所提供的藏药材和成方制剂中总汞的含量, 已经不能对药物的毒性、生物效应做出科学客观的评价^[17]。为此, 本实验初步研究佐太和含佐太的珍宝类藏成药在大鼠血液和主要器官中的蓄积情况, 为科学评价佐太的毒性作用提供一定的实验依据, 通过给予大鼠不同剂量和时间的佐太、含佐太珍宝类藏成药后, 检测大鼠血清、血浆、全脑、肝脏和肾脏中总汞、甲基汞、乙基汞、无机汞的含量, 相比前期相关研究和报道^[18], 能够更加全面具体地分

析不同价态的汞在大鼠体内的蓄积情况。

本研究表明,SD大鼠灌胃给予佐太和含佐太的珍宝类成方制剂后,汞能在血液和主要器官中产生不同程度的蓄积,并具有一定的剂量依赖性,均是佐太高剂量长期组>佐太常剂量长期组>佐太常剂量短期组>空白组。与空白组相比,大鼠分别连续给予佐太15 d、30 d,成药30 d后,脑组织、肝脏和肾脏中汞显著增多,无机汞在肾脏中有明显蓄积现象,血液中汞蓄积不明显。同时,佐太汞蓄积也具有一定的时间依赖性,时间越长汞蓄积的越多,提示佐太不宜高剂量、长时间的服用。大鼠体内蓄积汞的价态分析结果表明,血浆、肾脏中检出二价无机汞和甲基汞,但甲基汞的含量较低;血清、肝脏、全脑中仅检出二价无机汞,含量较低;所有样品均未检出乙基汞,说明大鼠脏器、血液样品中汞的存在形态主要以毒性较小的无机汞为主,而有机汞的含量相对较低。

综上所述,佐太在七十味珍珠丸和坐珠达西等珍宝类藏成药中配伍入药后,汞蓄积量明显减少,除肾脏中总汞和二价无机汞蓄积量相对较高外,其他部位稍高于或接近空白组。长期给予一定剂量的佐太及含有佐太的珍宝类藏成药制剂能够不同程度地增加SD大鼠血液、脑部、肝脏和肾脏部位的汞蓄积量,主要为毒性较小的二价无机汞,随着服用时间和剂量的增加,蓄积量逐渐增加,因此,服用佐太及含佐太的珍宝类藏成药制剂时应控制剂量和服用周期。为更好地评价佐太及其制剂的用药安全风险,提高制剂质量控制水平,还需进一步开展生物代谢与其活性机制的深入研究,以确保临床用药的安全性和有效性。

参考文献:

- [1] 兰科. 简述藏药佐太[J]. 中国民族医药杂志, 1999, (5): 86-89.
- [2] 阎立峰, 马小科, 朱清时. 藏药佐太无机成分分析[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(2): 159-162.
- [3] 斗嘎. 佐太及其配伍的藏成药毒性评析[J]. 青海师专学报, 2005, (4): 72-75.
- [4] 索郎. 佐太的炮制[J]. 中国民族医药杂志, 2007, 13(5): 40-43.
- [5] 张炜, 刘学良, 骆桂法, 等. 佐太等珍宝矿物类藏药材

中总砷、总汞及可溶性砷汞含量的对比研究[J]. 药物分析杂志, 2016, 36(4): 721-726.

- [6] 刘学良, 张炜, 刘亚蓉, 等. 七十味珍珠丸等珍宝类藏成药中总砷、总汞及人工胃液仿生提取可溶性砷、汞含量的对比研究[J]. 中国医院药学杂志, 2016, 36(14): 1159-1163.
- [7] 刘洪旭, 吴文晞, 王丹红, 等. 含朱砂中成药中甲基汞和乙基汞含量的HPLC-ICP-MS法检测[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(4): 873-874.
- [8] 赵静, 杜玉枝, 魏立新, 等. 藏药佐太中汞在小鼠体内的蓄积[J]. 中成药, 2017, 39(7): 1351-1355.
- [9] 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.
- [10] 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.
- [11] 魏立新, 杜玉枝, 刘海青, 等. 藏药安全与质量控制关键技术研究及应用[J]. 青海科技, 2019, 26(2): 4-9.
- [12] Clarkson T W. Mercury[J]. Annu Rev Public Health, 1983, 4: 375-380.
- [13] Liu S H, Lin-Shiau S Y. Studies on Mercury-induced Myotonia in the Mouse Diaphragm[J]. Arch Int Pharmacodyn Ther, 1991, 319: 86-100.
- [14] Chuu J J, Young Y H, Liu S H, et al. Neurotoxicity of Mercury Sulfide in the Vestibular Ocular Reflex System of Guinea Pigs[J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2001, 364(3): 249-258.
- [15] 王晓辉, 林瑞超, 董世芬, 等. 含汞矿物药的毒性研究进展[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(7): 1258-1264.
- [16] 杨咪咪, 王旗. 我国中药中重金属毒理学研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2016, 30(12): 1359-1368.
- [17] 吴艳萍, 林旭凯. 胃舒散中重金属铋在大鼠体内药代动力学研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(22): 108.
- [18] 刘学良, 刘亚蓉, 张炜, 等. 佐太及珍宝类藏成药中砷、汞的研究进展[J]. 时珍国医国药, 2015, 26(8): 1988-1990.

(收稿日期 2019年8月1日 编辑 郑丽娥)