

万胜化风丹、雄黄和朱砂的急性肝肾毒性作用

颜俊文¹, 苗加伟¹, 何海洋², 时京珍², 吴 芹¹, 刘 杰¹, 石京山¹

(1. 贵州省基础药理重点实验室, 遵义医学院药理教研室, 贵州 遵义 563003; 2. 贵阳中医学院实验中心基础医学实验室, 贵州 贵阳 550002)

摘要: **目的** 研究万胜化风丹中雄黄和朱砂的肝肾毒性作用, 探讨目前对其毒性评价指标的合理性。**方法** 成年昆明种小鼠分别一次性 ig 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 $36 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和氯化汞 $0.07 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 8 h 后检测肝及肾组织中砷和汞的含量, 检测血清中谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)、肌酐(Cre)、尿素氮(BUN)含量; RT-PCR 方法检测肝和肾中金属硫蛋白基因(MT-1)的表达。**结果** 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($P < 0.05$), 且亚砷酸钠 > 原方药 > 减量方药。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($P < 0.05$), 且氯化汞组 > 朱砂, 氯化汞组同时伴 Cre、BUN 显著升高($P < 0.05$)。亚砷酸钠组、氯化汞组肝肾病理损伤明显, MT-1 mRNA 在肝肾组织的高表达。**结论** 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。

关键词: 万胜化风丹; 雄黄; 朱砂; 亚砷酸钠; 氯化汞; 急性毒性

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-3002(2011)05-0380-06

DOI: 10.3867/j.issn.1000-3002.2011.04.010

万胜化风丹由天麻、僵蚕、全蝎、天南星、荆芥、雄黄、药母、麝香、朱砂、硼砂、巴豆霜和冰片等 15 味中药经独特的下窖发酵及风干工艺制作而成的传统中成药, 用于风痰闭阻(头痛、耳鸣、脑动脉硬化、肢体麻木无力及脑萎缩), 中风偏瘫, 癫痫, 面神经麻痹, 口眼歪斜等症的治疗, 1951 年被列入国务院保护的四大名药之一。

万胜化风丹原方含雄黄和朱砂约 10%, 众所周知, 雄黄和朱砂为砷和汞化合物, 近年来, 其安全性问题备受关注, 因此, 在原方基础上, 雄黄、朱砂用量减少了约 2/3。但减量方疗效下降, 其毒性变化未知。为了进一步探究雄黄、朱砂及其在万胜化风丹中的肝、肾毒性, 本研究采用一次性 ig 给予万胜化风丹原方药、雄黄和朱砂减量的万胜化风丹(减量方药)、不含雄黄和朱砂的万胜化风丹(减方药)、与原方药等量的雄黄和朱砂单药、亚砷酸钠和氯化汞, 比较其肝肾毒性, 为客观评价含雄黄和朱砂中药的肝肾毒性提供实验依据。

基金项目: 贵州省中药现代化科技产业研究开发专项资助项目(2010-5 号)

作者简介: 颜俊文(1981 -), 男, 硕士研究生, 主要从事神经药理学及毒理学研究, E-mail: yanjunwen@yahoo.com.cn

通讯作者: 石京山, E-mail: shijs@zmc.edu.cn

1 材料与方法

1.1 主要药品

万胜化风丹原方药、减量方药和减方药均由贵州万胜药业公司提供。雄黄和朱砂购自贵州德昌祥药厂。

1.2 试剂和主要仪器

Trizol: 宝生物工程(大连)有限公司, 焦碳酸二乙酯(diethylpyrocarbonate, DEPC): Sigma 公司, SYBR[®] GREEN PCRMaster Mix, ABI 公司, 逆转录试剂盒: 宝生物工程(大连)有限公司。自动血生化检测仪(日本 Olympus 公司); Lido-49 型原子荧光光谱仪(北京科创海光仪器有限公司); 实时荧光定量 PCR(RT-PCR) 仪, 美国 Bio-Rad 公司; TU-1810 紫外-可见分光光度计, 北京普析通用仪器有限责任公司; Eppendorf5417R 台式高速冷冻离心机, 22331 多功能梯度 PCR 仪, 德国 Eppendorf 公司。

1.3 动物分组及方法

昆明种小鼠, 清洁级, 雌雄各半, 体质量(20 ± 2)g, 由第三军医大学大坪医院实验动物中心提供, 合格证号: 0002438。

48 只昆明种小鼠随机分成 8 组, 每组 6 只。正常对照组给予蒸馏水; 万胜化风丹原方药 $3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、减量方药 $3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (雄黄和朱砂用量减少了约 2/3)、

减方药 $3 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 雄黄 $0.3 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组(与原方药含汞量相当), 朱砂 $0.3 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组(与原方药含汞量相当), 亚砷酸钠 $36 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组(原方药含砷量的 10%) 和氯化汞 $0.07 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组(原方药含砷量的 20%)。各组均一次性 ig 给药。

1.4 血液生化指标的检测

小鼠 ig 给药后 8 h 后断头处死, 取血, $2500 \times g$ 离心 10 min, 自动血生化检测仪检测血清中谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT), 谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST), 尿素氮(blood urea nitrogen, BUN), 肌酐(creatinine, Cre) 水平。

1.5 测量肝、肾组织中 As 和 Hg 含量

取肝、肾组织各约 100 mg, 分别放入消化罐中, 用刻度吸管加入 $65\% \text{ H}_2\text{NO}_3$ 5 ml, 置烤箱中 165°C 消化 2 h。自然冷却后, 将消化罐内液体倒入 50 ml 刻度管中并用去离子水定容到 25 ml, 混匀。从 50 ml 刻度管取 5 ml 样品消化液入另一试管, 在此试管加入 1 ml 5% 硫脲-抗坏血酸溶液混合, 反应 30 min, 用原子荧光光谱仪检测砷和汞含量。

1.6 HE 染色观察肝肾组织病理变化

取肝中叶适当大小, 肾纵切后的 1/2 迅速放入 4% 多聚甲醛中固定, 送病理科石蜡包埋、切片, HE 染色, 光学显微镜下采集图像。

1.7 RT-PCR 法检测肝、肾组织金属硫蛋白基因 metallothionein 1 (MT-1) mRNA 表达

取肝、肾组织各 50 ~ 100 mg, 按 PCR 试剂盒操作提取 mRNA, 纯化, 逆转录, 荧光定量 PCR 仪检测基因表达。引物由宝生物工程有限公司设计并合成, MT-1 同义链: $5'-\text{AATGTGCCCCAGGGCTGTGT}-3'$

反义链: $5'-\text{GCTGGGTTGGTCCGATACTATT}-3'$ 。用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法定量数据结果。

1.8 统计学分析

实验结果数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 应用 SPSS13.0 软件进行单因素方差分析检验。

2 结果

2.1 万胜化风丹原方药、减量方药和减方药对肝肾功能的影响

表 1 结果显示, 与正常对照组相比, 亚砷酸钠 $36 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ALT 增高, 朱砂 $0.3 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、氯化汞 $0.07 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组 Cre 和 BUN 均明显增高, 有统计学差异 ($P < 0.05$); 与原方药组相比, 氯化汞 $0.07 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cre 和 BUN 显著增高 ($P < 0.05$); 说明了亚砷酸钠对肝有损害, 氯化汞对肾有损害。

2.2 万胜化风丹原方药、减量方药和减方药对肝组织中砷、汞蓄积的影响

表 2 结果显示, 与正常对照组相比, 除减方组与雄黄 $0.3 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 外, 其余各组肝肾组织中砷的蓄积量明显增高, 有统计学差异 ($P < 0.05$); 与原方药组相比, 亚砷酸钠 $36 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 肝肾组织中砷的蓄积量明显增高, 有统计学差异 ($P < 0.05$), 表明肝肾组织中砷的蓄积量与化风丹中雄黄含量的高低直接相关, 万胜化风丹比单用雄黄更易引起砷在肝肾的蓄积, 说明复方与单味药之间的差异, 尽管亚砷酸钠组砷的用量只有原方药的 10%, 砷在肝肾组织中的蓄积却是原方药的 5 倍, 说明不同价态的砷在体内分布是有显著差别的。

表 1 万胜化风丹原方药、减量方药和减方药对小鼠肝肾功能的影响

Tab. 1 Effect of original Wansheng Huafeng Dan, the reduction recipe and the less prescriptions on hepatic and renal function of mice

药物/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	AST/ $\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$	ALT/ $\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$	Cre/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	BUN/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$
0(正常对照)	247 ± 34	53.2 ± 6.7	16.8 ± 0.8	10.2 ± 0.4
原方药 3	318 ± 34	71.7 ± 6.7	11.5 ± 0.9	11.2 ± 0.5
减方药 3	320 ± 29	64.2 ± 6.2	13.3 ± 0.8	13.7 ± 0.2
减量方药 3	259 ± 12	69.3 ± 4.8	11.0 ± 1.1	12.7 ± 0.8
雄黄 0.3	341 ± 33	64.5 ± 4.6	14.5 ± 1.8	11.2 ± 0.9
亚砷酸钠 0.036	382 ± 57	103.0 ± 12.8*	19.0 ± 3.1	14.9 ± 3.2
朱砂 0.3	329 ± 22	66.5 ± 5.4	16.7 ± 1.9	11.8 ± 1.4
氯化汞 0.07	359 ± 52	69.0 ± 5.8	22.0 ± 3.7*#	22.0 ± 6.2*#

大鼠按照分组分别一次性 ig 给予相应的药物, 8 h 后取血进行检测。ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶; BUN: 尿素氮; Cre: 肌酐。 $\bar{x} \pm s$, $n = 6$ 。* $P < 0.05$, 与正常对照组比较; # $P < 0.05$, 与原方药组比较。

表 2 万胜化风丹原方药、减量方药和减方药在肝肾组织中砷蓄积的影响

Tab. 2 Effect of original Wansheng Huafeng Dan, the reduction recipe and the less prescriptions on arsenic accumulation in the liver and kidneys of mice

药物/g·kg ⁻¹	砷含量/ng·g ⁻¹	
	肝	肾
0(正常对照)	54 ± 22	104 ± 8
原方药 3	1324 ± 283 *	699 ± 68 *
减方药 3	41 ± 7	184 ± 27
减量方药 3	308 ± 126 *	318 ± 73 *
雄黄 0.3	68 ± 17	264 ± 33
亚砷酸钠 0.036	6196 ± 1599 *#	3353 ± 1299 *#

分组处理见表 1. $\bar{x} \pm s, n=6$. * $P < 0.05$, 与正常对照组比较; # $P < 0.05$, 与原方药组比较.

表 3 结果显示,与正常对照组相比,除减方药外,其他各组肝、肾组织汞的蓄积量增加,有统计学差异($P < 0.05$);与原方药组相比,氯化汞 0.07 g·kg⁻¹引起汞在肝肾组织中蓄积增加,有统计学差异($P < 0.05$),朱砂 0.3 g·kg⁻¹组肾汞蓄积增加,有统计学差异($P < 0.05$)。说明复方中的汞比朱砂单用易于在肝内蓄积,而朱砂单用比复方中的汞更易在肾蓄积,氯化汞比其他各组更易引起肝肾组织中汞的蓄积,以肾组织中汞蓄积量最多。

表 3 万胜化风丹原方药、减量方药和减方药对肝肾组织中汞蓄积的影响

Tab. 3 Effect of original Wansheng Huafeng Dan, the reduction recipe and the less prescriptions on mercury accumulation in the liver and kidneys of mice

药物/g·kg ⁻¹	汞含量/ng·g ⁻¹	
	肝	肾
0(正常对照)	0	0.5 ± 0.5
原方药 3	624 ± 365	98.4 ± 60.5
减方药 3	0	0.9 ± 0.6
减量方药 3	39 ± 18	72.6 ± 16.1
朱砂 0.3	175 ± 145	1649.2 ± 961 *#
氯化汞 0.036	13233 ± 3114 *#	46917 ± 8334 *#

分组处理见表 1. $\bar{x} \pm s, n=6$. * $P < 0.05$, 与正常对照组比较; # $P < 0.05$, 与原方药组比较.

2.3 胜化风丹原方药、减量方药和减方药对肝肾组织的病理损伤

由图 1 可知,正常对照组肝组织染色均匀,细胞排列整齐有序。与正常对照组(图 1A)相比,亚砷酸钠组(图 1D)、氯化汞组(图 1F)肝细胞肿胀、嗜酸性变性、点状细胞凋亡和坏死;而万胜化风丹原方药组

(图 1B)、雄黄组(图 1C)、朱砂(图 1E)组病变轻微。

由图 2 可见,正常对照组(图 2A)肾脏肾小球

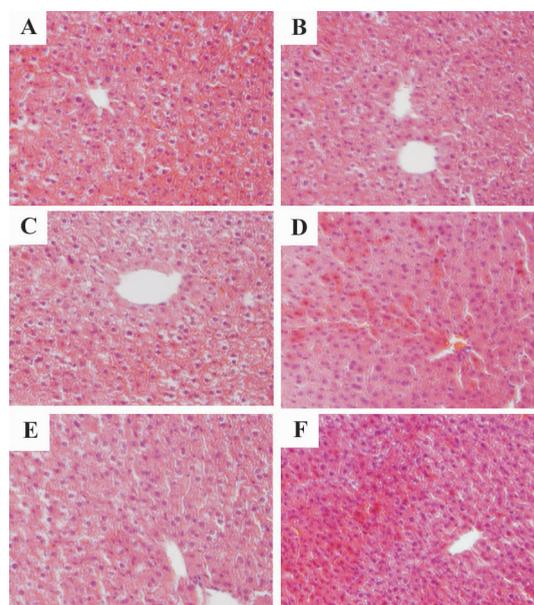


图 1 万胜化风丹原方药、减量方药和减方药对小鼠肝组织损伤的病理影响 (HE × 200). A: 正常对照; B: 万胜化风丹原方药 3 g·kg⁻¹; C: 雄黄 0.3 g·kg⁻¹; D: 亚砷酸钠 0.036 g·kg⁻¹; E: 朱砂 0.3 g·kg⁻¹; F: 氯化汞 0.07 g·kg⁻¹.

Fig. 1 Effect of original Wansheng Huafeng Dan, the reduction recipe and the less prescriptions on pathological morphology in liver of mice (HE × 200).

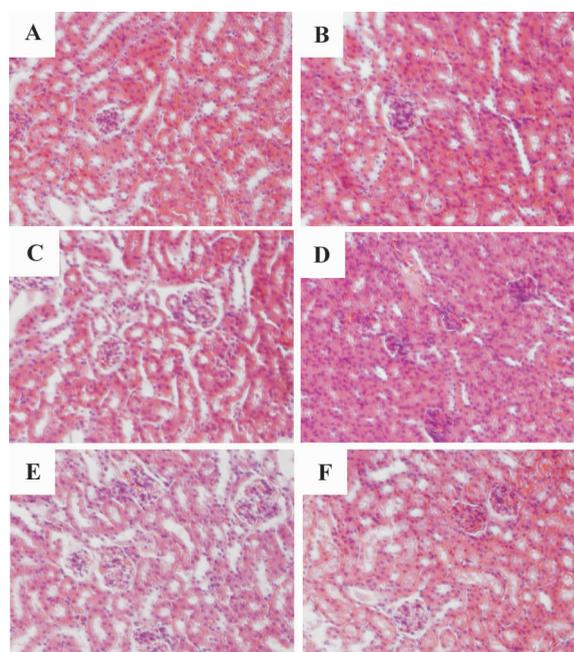


图 2 万胜化风丹原方药、减量方药和减方药对小鼠肾损伤的病理影响 (HE × 200). A: 正常对照组; B: 万胜化风丹原方药 3 g·kg⁻¹组; C: 雄黄 0.3 g·kg⁻¹组; D: 亚砷酸钠 0.036 g·kg⁻¹组; E: 朱砂 0.3 g·kg⁻¹组; F: 氯化汞 0.07 g·kg⁻¹组.

Fig. 2 Effect of original Wansheng Huafeng Dan, the reduction recipe and the less prescriptions on pathological morphology in kidneys of mice (HE × 200).

完整,肾小管清晰可见。与正常对照组相比,亚砷酸钠组肾小球萎缩,间质炎症反应(图 2D);氯化汞组肾小管管腔细胞肿胀,空泡变性,可见点状细胞凋亡和坏死(图 2F),而万胜化风丹组(图 2B)、雄黄组(图 2E)、朱砂组(图 2C)病变轻微。

2.4 万胜化风丹原方药、减量方药和减方药对小鼠肝 MT-1 mRNA 表达的影响

由表 4 可知,减方药组、亚砷酸钠组及氯化汞组的肝 MT-1 mRNA 水平均显著增高,分别为正常对照组的 2 倍、4 倍和 10 倍($P < 0.01$)。亚砷酸钠组及氯化汞组的肾 MT-1 mRNA 水平均显著增高,分别为正常对照组的 3 倍和 7 倍。亚砷酸钠组(相当于原方药组含砷量的 10%),氯化汞组(相当于原方药组含汞量的 20%)引起了肝肾应激反应。亚砷酸钠应激反应强于雄黄,氯化汞也强于朱砂。

表 4 万胜化风丹原方药、减量方药和减方药对小鼠肝金属硫蛋白(MT-1) mRNA 表达的影响
Tab. 4 Effect of original Wansheng Huafeng Dan, the reduction recipe and the less prescriptions on expression of metallothionein 1 (MT-1) mRNA in liver and kidneys of mice

药物/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	MT-1 mRNA 表达($2^{\Delta\Delta Ct}$)	
	肝	肾
0(正常对照)	100 ± 20	100 ± 43
原方药 3	113 ± 53	68 ± 35
减方药 3	207 ± 43	58 ± 24
减量方药 3	109 ± 23	12 ± 4
雄黄 0.3	48 ± 10	154 ± 41 [#]
亚砷酸钠 0.036	436 ± 167 ^{*#}	321 ± 47 ^{*#}
朱砂 0.3	112 ± 26	72 ± 16
氯化汞 0.07	1011 ± 266 ^{*#}	744 ± 91 ^{*#}

分组处理见表 1。 $\bar{x} \pm s, n = 6$ 。 * $P < 0.05$, 与正常对照组比较; [#] $P < 0.05$, 与原方药组比较。

3 讨论

本实验结果显示,万胜化风丹减方药,减量方药,原方药中雄黄、朱砂含量依次递增,小鼠 ig 给予 8 h 后,砷汞在肝肾中蓄积量也依次增高,但是血清肝、肾生化指标和病理均没有明显的改变,提示无明显肝肾功能异常。虽然亚砷酸钠组砷的摄入量只有万胜化风丹原方药组的 10%,却引起了肝肾组织砷蓄积的显著增高(5 倍),并且引起肝肾病理损伤和血清转氨酶升高。氯化汞组大鼠汞的摄入量仅为万

胜化风丹原方药的 20%,也引起了肝肾组织汞的显著蓄积和肝、肾病理损伤及 BUN 升高,由此可知,亚砷酸钠和氯化汞的毒性远大于雄黄和朱砂。万胜化风丹 $3 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 用量相当于临床用量的 7.5 倍,在此剂量下,一次性给药未见明显肝肾毒性。砷毒性取决于其化学物结构、氧化状态和其代谢途径,而不同砷化合物的毒性可相差百倍、甚至于千倍。如某些海鲜含砷量高于砒霜含砷量上千倍,但可食用^[3]。金属汞、无机汞和有机汞的毒性也不宜用总汞的含量来衡量,微量的二甲汞可致死,而大量的朱砂则不一定致死^[4]。

一些研究发现,复方中的药物可以减少砷和汞从雄黄和朱砂释放^[7],但本实验观察到不同的结果。雄黄组虽然与原方药组含砷相当,但是雄黄组较原方药组引起的肝和肾砷蓄积少,说明万胜化风丹复方可以促进雄黄中砷的生物利用度;朱砂组较原方药组引起的肝汞蓄积少,但是较原方药组肾汞蓄积量多,说明万胜化风丹复方对朱砂中汞的释放具有组织特异性。中药配方有君、臣、左、使的关系,也说明砷、汞在一定剂量范围内,有特定的药理作用,这亟待进一步研究。

MT- I 和 MT- II 在大多数哺乳动物的内脏器官中广泛存在,尤以肝、肾细胞为主,并且参加其功能调节。MT 的巯基能强烈螯合有毒金属,从而实现解毒功能。MT 通过与重金属结合可以有效地减轻重金属对机体的毒害,是对金属暴露和随之产生的毒性最敏感的生物标志^[2,10,16-18]。

前期研究发现,小鼠染毒 8 h 后,MT mRNA 升高是可以作为金属暴露和毒性的生物标志,而雄黄和朱砂对 MT 的诱导远低于常见的砷、汞化合物^[16-17]。与万胜化风丹一样,急性给予六神丸、安宫牛黄丸及雄黄、朱砂后产生的砷、汞蓄积和肝、肾毒性均远低于亚砷酸钠和氯化汞,说明雄黄和朱砂的毒性作用不能用亚砷酸钠和氯化汞替代说明^[16-17]。

砷毒性效应的大小与摄入人体的剂量、时间及途径有关,也与砷的价态有关。无机砷(3 价)化合物能与蛋白质中的巯基作用,毒性较大,砷化合物毒性顺序为: $\text{AsH}_3 > \text{As}^{3+} > \text{As}^0 > \text{As}^{5+} > \text{As}_4\text{S}_4$ (雄黄)^[3,6]。在本实验中,亚砷酸钠引起了 ALT 的升高、肝肾病理损伤,而雄黄未见明显毒性,这可能是因为亚砷酸钠比雄黄更易进入肝肾组织,所以其在组织中蓄积远高于雄黄。同样,本实验结果显示,朱砂毒性远小于氯化汞,因为朱砂的溶解度与生物利用度都很低,在 20℃ 时,氯化汞在水中溶解度是 $30 \sim 70 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,

而朱砂在水中溶解度只有 $0.001 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[4]。小鼠一次口服染毒朱砂 $20 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (约相当于临床剂量的 250 倍) 未见死亡, 而染毒甲基汞 (MeHg) $0.1 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 或氯化汞 $0.15 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 则致死^[11]。此外, 体外实验亦表明, 雄黄和朱砂的细胞毒性远小于亚砷酸钠、砷酸钠、氯化汞和甲基汞^[11,18]。因此, 砷和汞化合物的形式决定了其毒性。

由于国际上对砷和汞毒性的普遍关注, 我国对《中国药典》中的雄黄和朱砂剂量进行过修订, 如 1990 年版及以往的历版药典雄黄、朱砂日用剂量较大, 为 $0.3 \sim 1.5 \text{ g}$, 1995 年版药典将雄黄和朱砂剂量降至 $0.1 \sim 0.5 \text{ g}$ 。然而这种剂量调整仅仅是出于对朱砂和雄黄毒性的担忧, 并没有充分的科学依据^[8]。含雄黄的牛黄解毒片复方对发热模型大鼠炎症介质有抑制作用^[7]。在病理状态下 (感染性脑水肿) 安宫牛黄散可抑制被过度激活的乳酸脱氢酶^[9]。还有研究表明, 去除雄黄和朱砂的中药复方药效降低^[12-15], 在脑出血大鼠模型, 安宫牛黄丸全方 (含雄黄和朱砂) 可通过影响兴奋性氨基酸的表达明显降低脑组织的继发性损害, 去除雄黄和朱砂的减方药作用不明显^[12]。在改善脑出血大鼠的神经功能障碍、降低脑系数和脑血肿、周围脑组织含水量及提高红细胞变形能力方面, 全方药也有优于减方药的趋势^[13]。最近研究表明, 雄黄是安宫牛黄丸抗炎作用的有效组分之一^[14-15]。雄黄和朱砂在万胜化风丹中的确切药理作用还有待进一步研究。

剂量和用药时间是药物产生毒性的重要因素。虽然本研究表明万胜化风丹的急性毒性远低于其他砷汞化合物, 但是选择药物的适应证依然很重要, 因为不同病理状态对药物反应不一样, 应合理用药, 不要长期久服。比较长期服用朱砂安神丸^[2]和安宫牛黄丸^[10]的慢性毒性实验中发现, 含雄黄和朱砂的中药复方毒性远远低于亚砷酸钠和氯化汞。

因此, 用总砷、总汞来评价雄黄、朱砂的毒性缺乏科学可比性, 应考虑其毒代动力学和毒理学特征。

参考文献:

- [1] 万胜化风丹 [OL] <http://www.gzwsyy.com/> [2007-11-08]
- [2] Shi JZ, Kang F, Wu Q, Lu YF, Liu J, Kang YJ. Nephrotoxicity of mercuric chloride, methylmercury and cinnabar-containing Zhu-Sha-An-Shen-Wan in rats [J]. *Toxicol Lett*, 2011, **200**(3):194-200.
- [3] Liu J, Lu Y, Wu Q, Goyer RA, Waalkes MP. Mineral

arsenicals in traditional medicines: orpiment, realgar, and arsenolite [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2008, **326**(2):363-368.

- [4] Liu J, Shi JZ, Yu LM, Goyer RA, Waalkes MP. Mercury in traditional medicines: is cinnabar toxicologically similar to common mercurials [J]? *Exp Biol Med* (Maywood), 2008, **233**(7):810-817.
- [5] 汤毅珊, 王宁生. 中药复方中配伍药物对雄黄可溶性砷含量的影响 [J]. 中华现代中西医杂志, 2005, **3**(9):769-771.
- [6] 梁国刚, 张启伟. 朱砂、雄黄中各成分的溶解度对其药效、毒副作用的影响 [J]. 中国中药杂志, 2002, **27**(5):391-392.
- [7] 汤毅珊, 王宁生, 张银卿, 叶少梅, 欧卫平. 雄黄及含雄黄复方对发热模型大鼠应激蛋白、炎症介质和补体的影响 [J]. 中药材, 2009, **32**(1):73-78.
- [8] 梁爱华, 王金华, 薛宝云, 李春英, 刘婷, 赵雍, 等. 朱砂对大鼠的肝肾毒性研究 [J]. 中国中药杂志, 2009, **34**(3):312-318.
- [9] 汤毅珊, 林璞粤, 欧卫平, 王宁生. 安宫牛黄散中的朱砂雄黄对感染性脑水肿大鼠乳酸脱氢酶及其同工酶的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2005, **25**(5):436-440.
- [10] Lu YF, Wu Q, Yan JW, Shi JZ, Liu J, Shi JS. Realgar, cinnabar and An-Gong-Niu-Huang Wan are much less chronically nephrotoxic than common arsenicals and mercurials [J]. *Exp Biol Med* (Maywood), 2011, **236**(2):233-239.
- [11] 康峰, 吴琨, 何海洋, 吴芹, 刘杰, 康裕建, 等. 朱砂、朱砂安神丸与甲基汞、氯化汞的毒性对比研究 [J]. 中国中药杂志, 2010, **35**(4):499-503.
- [12] 付宪文, 赵继宗, 王硕. 安宫牛黄丸对大鼠自发性脑出血模型血肿周围脑组织氨基酸表达及超微结构的影响研究 [J]. 河北医学, 2007, **13**(2):224-225.
- [13] 方芳, 孙建宁, 杨莉, 杨仲义. 安宫牛黄丸全方及简方对大鼠脑出血损伤的影响 [J]. 北京中医药大学学报, 2007, **30**(9):611-614.
- [14] 张锋, 陆远富, 刘杰, 石京山. 雄黄是安宫牛黄丸抗细菌脂多糖诱导神经胶质细胞致炎作用的有效成分 [J]. 中国中药杂志, 2010, **35**(24):3333-3338.
- [15] 张锋, 刘杰, 石京山. 安宫牛黄丸及朱砂和雄黄对脂多糖诱导的神经损伤的作用 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2010, **24**(3):161-167.
- [16] Liu J, Liang SX, Lu YF, Miao JW, Wu Q, Shi JS. Realgar and realgar-containing Liu-Shen-Wan are less acutely toxic than arsenite and arsenate [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, **134**(1):26-31.
- [17] Lu YF, Yan JW, Wu Q, Shi JZ, Liu J, Shi JS. Realgar- and cinnabar-containing an-gong-niu-huang wan (AGNH) is much less acutely toxic than sodium arse-

nite and mercuric chloride [J]. *Chem Biol Interact*, 2011, **189**(1-2):134-140.

[18] Wu Q, Lu YF, Shi JZ, Liang SX, Shi JS, Liu J.

Chemical form of metals in traditional medicines underlines potential toxicity in cell cultures[J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, **134**(3):839-843.

Acute hepatic and renal toxicity of Wansheng Huafeng Dan, realgar and cinnabar

YAN Jun-wen¹, MIAO Jia-wei¹, HE Hai-yang², SHI Jing-zheng²,
WU Qin¹, LIU Jie¹, SHI Jing-shan¹

(1. Department of Pharmacology, Zunyi Medical College, Zunyi 563003, China; 2. Basic Medical Laboratory of Experimental Center, Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China)

Abstract: **OBJECTIVE** To explore the hepatic and renal toxicity of realgar and cinnabar in Wansheng Huafeng Dan (WSHFD). **METHODS** Mice were ig given WSHFD 3 g·kg⁻¹ that contained 0%, 3% or 10% realgar and cinnabar respectively, realgar 0.3 g·kg⁻¹, cinnabar 0.3 g·kg⁻¹, NaAsO₂ 0.036 g·kg⁻¹ and HgCl₂ 0.07 g·kg⁻¹. Eight hours later, As and Hg contents in liver and kidneys, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), blood urea nitrogen (BUN) and creatinine (Cre), histopathology, and metallothionein 1 mRNA (MT-mRNA) expression were determined. **RESULTS** Accumulation of As in liver and kidneys in WSHFD containing 10% or 3% realgar and cinnabar groups and NaAsO₂ group was significantly higher than that in normal control group ($P < 0.05$). Accumulation of Hg in kidneys in cinnabar and HgCl₂ groups was significantly higher than in WSHFD groups containing 10% realgar and cinnabar ($P < 0.05$). Compared with normal control group and WSHFD groups containing 10% realgar and cinnabar, ALT activity significantly increased in NaAsO₂ group, and Cre and BUN significantly increased in HgCl₂ group. Compared with WSHFD groups containing 10% realgar and cinnabar, the liver and kidneys in NaAsO₂ and HgCl₂ groups were injured and MT-1 mRNA expression was upregulated ($P < 0.05$). **CONCLUSION** Acute toxicity of realgar, cinnabar, and WSHFD is far below those of NaAsO₂ and HgCl₂.

Key words: Wansheng Huafeng Dan; realgar; cinnabar; arsenite; mercuric chloride; acute toxicity

Foundation item: The project supported by Guizhou Science and Technology (2010-5)

Corresponding author: SHI Jing-shan, E-mail: shijs@zmc.edu.cn, Tel: 13314438666

(收稿日期: 2010-10-28 接受日期: 2011-04-21)

(本文编辑: 乔虹)