

· 毒理 ·

## 玉红膏单次给药家兔体内汞的吸收及毒性

孙新民<sup>1</sup>, 王旗<sup>1\*</sup>, 牟稷征<sup>2</sup>, 王丽霞<sup>2</sup>

(1. 北京大学公共卫生学院毒理学系, 北京 100191;

2. 中国中医科学院广安门医院, 北京 100053)

**[摘要]** 目的: 研究含 0.4% 轻粉的玉红膏单次给药后家兔体内汞的吸收及毒性, 以考察玉红膏用药的安全性。方法: 日本大耳白家兔 12 只, 雌雄各半, 分为 3 组, 分别为基质(凡士林)对照组, 玉红膏组, 0.4% 轻粉组。按  $1.56 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  ( $0.039 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-2}$ , 相当于临床日用剂量的 2 倍) 单次经皮给药, 用氢化物-原子吸收法测定全血和主要脏器中的汞含量来确定体内汞的吸收情况, 以血生化指标丙氨酸转氨酶(ALT), 天冬氨酸转氨酶(AST), 肌酐(Cr), 血尿素氮(BUN)评价给药后对家兔肝、肾功能的影响。**结果:** 单次经皮给药后, 和基质对照组相比, 玉红膏和 0.4% 轻粉组家兔血中汞含量未见明显差异, 不同时间点家兔血中汞含量和给药前相比也未见明显升高; 和对照组相比, 给药组家兔肝、肾中汞含量显著升高, 心、脾和脑中汞含量均没有显著变化; 各组血生化指标 BUN, Cr, AST 的差异无统计学意义; 和基质对照组相比, 玉红膏组、0.4% 轻粉组 ALT 显著升高。**结论:** 玉红膏单次经皮给药后家兔吸收入血的汞很少, 但在肝、肾组织中有一定蓄积。

**[关键词]** 玉红膏; 家兔; 经皮给药; 汞吸收; 安全性

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)24-0193-04

## Mercury Absorption and Toxicity of Single Dose of Yuhong Ointment in Rabbits

SUN Xin-min<sup>1</sup>, WANG Qi<sup>1\*</sup>, MU Ji-zheng<sup>2</sup>, WANG Li-xia<sup>2</sup>

(1. Department of Toxicology, School of Public Health, Peking University, Beijing 100191, China;

2. Guanganmen Hospital, The Chinese Academy of Chinese Medicine, Beijing 100053, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the toxicity and absorption of mercury following single dose transdermal administration of Yuhong ointment containing 0.4% calomel in rabbits. **Method:** Twelve Japanese white rabbits, half in male or female, were divided into three groups: control group, Yuhong ointment group and 0.4% calomel

**[收稿日期]** 20110825(014)

**[基金项目]** “十一五”国家科技支撑计划项目(2008BA153B084)

**[第一作者]** 孙新民, 硕士研究生, 从事中药毒理研究, E-mail: newman-611@163.com

**[通讯作者]** \*王旗, 教授, Tel: 010-82801527, E-mail: wangqi@bjmu.edu.cn

[11] Dufour C, Corcione A, Svahn J, et al. Interferon  $\gamma$  and tumour necrosis factor  $\alpha$  are overexpressed in bone marrow T lymphocytes from paediatric patients with aplastic anaemia [J]. Br J Haematol, 2001, 115 (4):1023.

[12] Dubey S, Shukla P, Nityanand S. Expression of interferon- $\gamma$  and tumor necrosis factor- $\alpha$  in bone marrow

T cells and their levels in bone marrow plasma in patients with aplastic anemia [J]. Ann Hematol, 2005, 84 (9):572.

[13] 董爱英, 孙续国, 袁宝军. G-CSF、TNF- $\alpha$  的水平表达与再生障碍性贫血发病机制的相关研究[J]. 中国综合临床, 2001, 17(2):153.

[责任编辑 何伟]

group. The rabbits were given a single transdermal administration of  $1.56 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  ( $0.039 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-2}$ , corresponding to 2-fold of the human therapeutic dose). The contents of mercury in blood and main organs were measured by HG-AAS. The serum biochemical indexes including creatinine (Cr), BUN, AST, ALT were measured to reflex the function of liver and kidney. **Result:** The contents of blood mercury in the experimental groups showed no significant difference compared with control group, while the content of mercury didn't increase obviously after single dose transdermal administration. The mercury contents of the experimental groups in liver and kidney were significantly higher than that of the control group, whereas there were no statistical significance in heart, spleen and brain. Among of the blood biochemical indexes, only ALT increased significantly in the experimental groups compared with that in the control group. **Conclusion:** There was little absorption of mercury and a definite accumulation of mercury in liver and kidney following single dosage transdermal administration of Yuhong ointment in rabbits.

[**Key words**] Yuhong ointment; rabbit; transdermal administration; mercury absorption; safety

玉红膏源于《外科正宗》生肌玉红膏,生肌玉红膏是“外科收敛药中的神药”,具有解毒消肿、生肌止痛之功效,适用于痈疽疮疖,褥疮发背,疮疡肿痛,溃烂流血等症<sup>[1]</sup>。广安门医院中医专家根据临床经验在《外科正宗》生肌玉红膏的基础上,对处方进行适当改进制成了传统的外用油膏玉红膏。玉红膏由地黄、大黄、紫草、当归、轻粉等药物组成,具有清热凉血,祛腐生新的作用。临床应用广泛,用于治疗各种慢性溃疡,久不收口,疗效显著。现代研究表明,玉红膏促进创面愈合的作用机制可能与其诱导创缘残留的表皮干细胞增殖分化和在增生期促进创面神经肽 P 物质(SP)分泌有关<sup>[2-3]</sup>。

轻粉主要成分为  $\text{HgCl}_2$  (含量为 98.5% ~ 100%),轻粉亦是中医临床应用很早的一种丹剂,历代除外用于疮疡面外,还常配丸散内服作缓泻药。轻粉外用多以复方形式出现,是外科常用的药物,用于杀虫、攻毒、敛疮。因使用不当或过量应用轻粉导致的不良反应或中毒症状主要表现为:口咽部烧灼痛、黏膜肿胀、出血、糜烂、恶心、呕吐、腹痛腹泻、血便,过量汞吸收入血可致汞中毒性肾病,严重可致肾功能衰竭<sup>[4]</sup>。玉红膏以及其他生肌膏中均含有轻粉,存在安全性方面的隐患,迄今为止尚未见有关安全性研究的报道。本研究通过玉红膏单次经皮给药,测定全血及组织中的汞含量,分析反映肝、肾功能的血生化指标[血尿素氮(BUN),天冬氨酸转氨酶(AST),肌酐(Cr),丙氨酸转氨酶(ALT)],考察玉红膏中汞的吸收及毒性,对玉红膏的安全性进行实验研究。

## 1 材料

**1.1 动物** 日本大耳白家兔 12 只,体重 2 kg 左右,6 周龄,雌雄各半,北京大学医学部实验动物科学部提供,许可证号 SYXK(京)2006-0025。

**1.2 药品和试剂** 玉红膏(由地黄、大黄、紫草、当归、轻粉等药物制成的外用油膏),其中轻粉含量 0.4%,临床人日用剂量为  $(0.015 \sim 0.020) \text{ g} \cdot \text{cm}^{-2}$  (广安门医院药剂科医院制剂,批号 20090113);医用凡士林;按质量分数 0.4% 配制轻粉的凡士林膏;  $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  汞标准液(国家标准样品 GSB 04-1729-2004);氯化亚汞(上海晶纯试剂有限公司);30% 过氧化氢;硼氢化钠;高锰酸钾;重铬酸钾;氢氧化钠、硝酸、硫酸为优级纯。

**1.3 仪器** SH230 重金属消解仪(济南海能仪器有限公司);novAA400 原子吸收光谱仪、HS50 氢化物发生装置(德国耶拿分析仪器股份公司)。

## 2 方法

**2.1 分组及给药方式** 家兔随机分为 3 组,每组 4 只,雌雄各半,给药前用电动剃毛刀将家兔背部区域去毛  $12 \text{ cm} \times 12 \text{ cm}$ ,休息观察 24 h。实验当日,均按  $1.56 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  ( $0.039 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-2}$ ,相当于临床日用剂量的 2 倍)给药,给药面积  $9 \text{ cm} \times 9 \text{ cm}$  (约体表面积的 5%),分别涂凡士林(基质对照组)、临床用玉红膏(玉红膏组),配制的 0.4% 轻粉凡士林膏(0.4% 轻粉组),给药区域上覆一层保鲜膜,外盖 2 层纱布,再用医用胶带固定,然后用外科防护头套固定以防止家兔挣脱,每只家兔单笼饲养。分别于给药前和给药后 2,4,6,8,10,11,12,13,14,16,24,48 h,自兔耳缘静脉采血约 1 mL 于抗凝 EP 管中,实验结束股动脉放血处死家兔,留取血液 10 mL,静置后  $2500 \text{ r} \cdot$

min<sup>-1</sup>离心得到血清;分别取肝、肾、心、脾和脑组织冻存,另取部分肝、肾、脾,用10%甲醛固定,做组织病理检查。

**2.2 氢化物发生-冷原子吸收光谱法测汞** 用0.5% NaBH<sub>4</sub>和0.1% NaOH作还原剂,反应时间4 s,延迟时间0 s,积分时间45 s。高纯氩气为载气,Hg空心阴极灯(波长253.7 nm),灯电流2.0 mA,光谱通带0.5 nm,吸光度定量,氘灯扣除背景。

**2.3 标准曲线的制备** 将1 000 mg·L<sup>-1</sup>汞标准储备液配制成500 μg·L<sup>-1</sup>的汞标准应用液(0.05%重铬酸钾,5%硝酸),精密量取汞标准应用液0.2,0.4,1.0,2.0 mL于50 mL量瓶中,用1%硝酸定容得到2,4,10,20 μg·L<sup>-1</sup>标准系列溶液。

**2.4 玉红膏中汞含量的测定** 参照GB7917.1-87化妆品卫生化学标准检验方法和文献<sup>[5-6]</sup>方法,称取玉红膏0.06~0.08 g,加五氧化二钒5 mg,硝酸4 mL,浓硫酸0.5 mL,放置过夜,用重金属消解仪加热消化2 h,温度为135~140℃,然后加入去离子水5 mL,煮沸以赶酸,冷却后加去离子水定容至25 mL,稀释后用冷原子吸收光谱法测定汞含量。

**2.5 全血汞含量测定** 采用硝酸-过氧化氢法消化<sup>[7]</sup>。称取全血0.4 g于消化管中,加3 mL浓硝酸,室温放置30 min,再加入1 mL 30%过氧化氢,室温放置30 min,在重金属消解仪上60℃消化2 h,冷却片刻,转移至25 mL比色管,定容后用冷原子吸收光谱法测定汞含量。

**2.6 组织中汞含量测定** 采用湿法酸消化法消化。将组织解冻,剪碎,称取0.4~0.6 g于消化管中,加浓硫酸1.5 mL,浓硝酸2 mL,在通风橱放置过夜,再加2 mL KMnO<sub>4</sub>,用重金属消解仪60℃消化2 h,冷却后加1 mL过氧化氢振摇,转移至25 mL比色管,定容后用冷原子吸收光谱法测定汞含量。

**2.7 肝肾功能检测** 血清样品由广安门医院检验科用自动生化仪检测血清丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、血尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)。

**2.8 统计分析** 各组数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用SPSS 13.0软件进行统计学分析,不同时间点血中汞含量比较采用重复测量方差分析,组织器官中汞含量比较采用完全随机化方差分析, $P < 0.05$ 为有统计学差异。

### 3 结果

**3.1 玉红膏中汞含量** 实验用玉红膏中汞含量为

(746.41 ± 34.08) μg·g<sup>-1</sup>,而不含轻粉玉红膏中汞含量为(0.98 ± 0.20) μg·g<sup>-1</sup>,可见玉红膏中的汞主要来自轻粉,而非其他中药成分。

**3.2 单次给药后家兔全血中汞含量的变化** 经皮给药后家兔血中汞含量的变化见表1,重复测量方差分析显示,不同时间点家兔血中汞含量的差异不显著,未见明显的吸收峰;与基质对照组相比,玉红膏组及0.4%轻粉组家兔血中汞含量无显著性差异,提示经皮单次给药后家兔吸收入血的汞含量很少。

表1 单次经皮给药后家兔全血中汞含量( $\bar{x} \pm s, n = 4$ )

时间/h	ng·g <sup>-1</sup>		
	基质对照 /1.56 g·kg <sup>-1</sup>	玉红膏 /1.56 g·kg <sup>-1</sup>	0.4%轻粉 /1.56 g·kg <sup>-1</sup>
0	51.25 ± 1.51	47.09 ± 7.84	46.33 ± 13.63
2	47.88 ± 1.89	45.68 ± 6.05	48.95 ± 3.06
4	47.54 ± 2.02	51.82 ± 4.23	48.22 ± 6.24
6	48.89 ± 5.81	50.25 ± 6.34	47.69 ± 10.36
8	47.13 ± 5.81	48.25 ± 7.97	43.98 ± 8.36
10	45.67 ± 6.95	46.88 ± 4.33	43.27 ± 5.78
11	45.75 ± 7.66	47.82 ± 6.50	46.73 ± 3.26
12	51.39 ± 4.61	47.30 ± 3.06	48.27 ± 5.61
13	47.42 ± 4.34	53.44 ± 4.43	45.30 ± 3.73
14	38.23 ± 6.80	49.91 ± 3.92	45.12 ± 6.23
16	53.43 ± 7.38	51.89 ± 10.36	42.46 ± 7.06
24	46.58 ± 3.13	37.45 ± 11.13	53.28 ± 6.50
48	48.70 ± 6.42	43.05 ± 9.08	49.63 ± 2.74

**3.3 单次给药后家兔组织中汞的含量** 经皮给药后,汞在家兔不同组织中的分布,以肾中含量最高,肝次之,心、脾、脑中汞含量低(表2)。和基质对照组相比,玉红膏组、0.4%轻粉组家兔肝中汞含量升高均有显著差异( $P < 0.05$ );玉红膏组、0.4%轻粉组家兔肾中的汞含量较对照组显著升高( $P < 0.05$ );而心、脾和脑中汞含量的差异没有统计学意义。

**3.4 肝、肾功能检测** 家兔单次经皮给药后,给药组血清BUN,Cr水平和基质对照组相比差异无统计学意义,对肾功能的影响不大;和基质对照组比较,玉红膏组、0.4%轻粉组ALT的升高均有统计学差异( $P < 0.05$ ),但AST没有明显升高(表3)。

### 4 讨论

玉红膏中虽然含有轻粉,但和其他常用外用含汞制剂相比,含量(0.4%)相对较低。与基质对照

表 2 单次经皮给药后家兔组织中汞含量( $\bar{x} \pm s, n=4$ )

ng·g<sup>-1</sup>

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	肝	肾	心	脾	脑
基质对照	1.56	30.45 ± 4.24	48.99 ± 29.42	24.52 ± 5.92	36.98 ± 5.76	25.79 ± 4.43
玉红膏	1.56	77.73 ± 31.58 <sup>1)</sup>	225.80 ± 51.00 <sup>1)</sup>	13.59 ± 3.81	22.35 ± 3.13	15.96 ± 1.70
0.4% 轻粉	1.56	59.94 ± 25.66 <sup>1)</sup>	571.39 ± 44.09 <sup>1)</sup>	19.28 ± 6.11	30.79 ± 14.38	19.10 ± 2.71

注:与基质对照组比较<sup>1)</sup>P < 0.05 (表 3 同)。

表 3 单次经皮给药对家兔肝肾功能的影响( $\bar{x} \pm s, n=4$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	BUN/mmol·L <sup>-1</sup>	Cr/ $\mu$ mol·L <sup>-1</sup>	ALT/U·L <sup>-1</sup>	AST/U·L <sup>-1</sup>
基质对照	1.56	4.75 ± 4.45	98.67 ± 45.63	34.75 ± 29.17	76.75 ± 26.94
玉红膏	1.56	6.70 ± 0.95	45.50 ± 26.99	126.25 ± 41.67 <sup>1)</sup>	87.75 ± 43.84
0.4% 轻粉	1.56	6.26 ± 1.69	42.00 ± 51.13	89.75 ± 18.70 <sup>1)</sup>	33.75 ± 17.59

相比,单次经皮给药 0.039 g·cm<sup>-2</sup>,相当于临床日用剂量的 2 倍,玉红膏组家兔血中汞含量并未见明显升高。据文献报道,单次口服给药 0.58 g·kg<sup>-1</sup>轻粉后,大鼠体内吸收很快,血中最大汞含量为 2.15  $\mu$ g·mL<sup>-1</sup>,达峰时间为 1.2 h<sup>[8]</sup>。本研究发现经皮单次给药后,家兔血中汞含量较给药前升高并不明显,48 h 内也没有出现明显的峰值,这可能与经皮吸收的汞量少有关,也可能因玉红膏中轻粉的含量不高所致。

汞蓄积的主要组织为肾、肝,经皮给药后与基质对照组相比,实验组家兔肾、肝组织中有明显的汞蓄积,肾中汞含量远高于其他组织,这与轻粉口服给药在大、小鼠的组织分布情况类似<sup>[8,9]</sup>。但玉红膏组与同等剂量的轻粉组相比,含轻粉的玉红膏组家兔肾中的汞含量较单用轻粉组为低,二者对所测的肾功能指标的影响均无统计学显著性。但玉红膏组、0.4% 轻粉组对大鼠肝功能有影响,ALT 的升高均有统计学意义(P < 0.05),ALT 是否为一过性升高,停药后能否恢复正常均有待于进一步研究。

玉红膏作为一种常见的传统外用药,由于其中含轻粉而具有潜在的毒性,本研究对单次经皮给药后家兔汞的体内吸收和组织分布及肝肾功能的影响进行了初步的探讨,玉红膏反复给药后汞的吸收和在组织的分布及蓄积情况还有待于深入研究。

### [参考文献]

- [1] 《中药辞海》编写组(余传隆,黄素康,丁志遵,等). 中药辞海. 一卷[M]. 北京:中国医药科技出版社, 1999:1336.
- [2] 孔繁飞,黄清怡,孔焕宇,等. 玉红膏对大鼠创面愈合过程中表皮干细胞增殖分化的影响[J]. 中国中医药信息杂志,2007,14(4):41.
- [3] 黄清怡,孔繁飞,李莉,等. 玉红膏对大鼠创面愈合修复中神经肽 P 物质的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2008,15(1):39.
- [4] 李安,孙利梅,王涤新. 含轻粉中药丸导致急性汞中毒[J]. 药物不良反应杂志, 2010,12(2):120.
- [5] 张宇红. 氢化物发生-冷原子吸收光谱法测定化妆品中汞[J]. 理化检验:化学分册,2004, 40(9):519.
- [6] 鲁丹,李海涛. 氢化物发生原子吸收光谱法测定化妆品中汞[J]. 环境与健康杂志,1999, 16(4):233.
- [7] 徐为民,王前梁,唐文娟. 原子荧光光谱法测定血中汞[J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(10):2138.
- [8] 徐莲英,蔡贞贞,关焰,等. 中药轻粉在动物体内的动力学过程[J]. 中成药,1991, 13(1):2.
- [9] 何海洋,康峰,颜俊文,等. 朱砂、朱砂安神丸与氯化汞、轻粉的急性毒性对比[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011,17(2):219.

[责任编辑 聂淑琴]