

## ◇ 药理药化 ◇

藏药佐太长期给药  
对小鼠毒性的初步研究朱洪梅<sup>1,2,3</sup>, 魏立新<sup>1,3\*</sup>, 杜玉枝<sup>1,3</sup>, 王东平<sup>1,2,3</sup>, 李 岑<sup>1,2,3</sup>

(1. 中国科学院西北高原生物研究所, 青海 西宁 810008;

2. 中国科学院研究生院, 北京 100039;

3. 青海省藏药药理学和安全性评价研究重点实验室, 青海 西宁 810008)

**摘要:**目的 探索 KM 小鼠以临床等效剂量长期给予藏药佐太对机体的毒性情况, 为佐太成方制剂的临床安全用药提供科学依据。方法 KM 小鼠随机分为空白组和给药组, 给药剂量为  $6.67 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ bw} \cdot \text{d}^{-1}$ , 给药周期为 4.5 个月, 灌胃给药, 观察小鼠的外观体征、体重变化、进食饮水等情况, 并检测血常规、肝肾功能血清生化指标以及肝、肾、脾、脑组织病理学结构。结果 与空白组比较, 给药组小鼠的外观特征、行为特征、体重变化、进食饮水、粪便外观在整个实验过程中无显著性差异; 给药组小鼠的红细胞平均血红蛋白浓度 (MCHC) 显著高于空白组 ( $P < 0.05$ ), 其他血常规指标均无显著性差异; 4.5 个月时给药组 AST/ALT 出现显著性下降, 但血清 ALT、AST、TBIL、BUN、Crea 等指标均无显著性变化; 病理组织学观察发现, 4.5 个月时给药组小鼠肾脏近曲小管、肝脏和脾脏组织学结构出现了轻微变化, 脑组织学结构正常。结论 KM 小鼠以临床等效剂量给药佐太 4.5 个月, 对其外观体征、生长发育状况、血常规指标、肝肾功能血清生化指标、脑组织学结构无明显影响, 但可能会对 KM 小鼠肾脏、肝脏和脾脏组织学结构产生一定程度的影响, 提示含佐太复方制剂服用周期不宜过长。

**关键词:**藏药; 佐太; 汞; 重金属; 毒性; 安全性

DOI 标识: doi:10.3969/j.issn.1008-0805.2013.08.098

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1008-0805(2013)08-2022-03

藏药“佐太”的藏语全称为“仁青欧曲佐珠钦木”, 是藏医对剧毒水银、硫磺、能持八金、能持八矿等原辅料经过特殊炮制而得到的一种黑色粉末制剂, 是配制七十味珍珠丸、仁青常觉、仁青芒觉等名贵藏成药的主要原料。藏医认为佐太配合其他药物使用具有减毒增效、生肌健脾、滋补强壮, 抗病健身、延年益寿等功效, 被称为“众药之王”, 居于藏药核心地位<sup>[1-4]</sup>。现代药理学研究证实<sup>[5-8]</sup>, 佐太具有一定的镇定安神、促进睡眠、解热、抗炎、增强免疫、延长果蝇寿命、抑菌等药理活性。佐太在藏医药中已经具有近千年的临床使用历史, 且应用面广, 用量大。

然而, 由于佐太的炮制过程中使用了大量的重金属, 如: 汞、金、银、铜、铅、砷等多种重金属或矿物原辅料, 重金属安全性问题尤为突出, 含佐太藏成药很难被人们接受。尽管含佐太的复方制剂在长期临床使用中并未发现明显毒副作用, 但是缺乏确切的科学证据, 其临床用药安全性备受当代医药学界质疑。为此, 本研究以 KM 小鼠为实验对象, 以临床等效剂量连续灌胃给予佐太 4.5 个月, 探索长期服用佐太对机体产生可能的影响或毒性情况, 为指导佐太复方制剂临床安全合理用药提供参考。

## 1 材料与仪器

### 1.1 试药与试剂 佐太(于 2008 年 11 月 19 日购于西藏自治区

药厂)、羧甲基纤维素钠 (AR, 天津市恒兴化学试剂制造有限公司)、甲醛 (AR, 天津市恒兴化学试剂制造有限公司)。

1.2 动物 SPF 级 KM 小鼠, 由甘肃中医学院实验动物中心提供, 合格证编号: SCXK(甘)2011-0001。动物饲养于青海省藏药药理学和安全性评价重点实验室动物实验房, 室内恒温采暖装置控温, 室内温度 ( $20 \pm 5$ ) °C, 相对湿度 40% ~ 70%, 自然光照, 机械通风。

1.3 仪器 Eclipse E200 显微镜 (日本, Nikon 公司); XT-1800i 全自动血细胞分析仪 (日本, Sysmex 公司); 7170S 全自动生化分析仪 (日本, Hitachi 公司); RM2235 石蜡切片机 (德国, Leica 公司); ML104 电子天平 (瑞士, 梅特勒托利多仪器有限公司); 3K15 高速冷冻离心机 (德国, Sigma 公司)。

## 2 方法

2.1 动物分组与给药 选用健康 KM 小鼠 64 只, 体质量在 18 ~ 22 g。实验室适应 1 周后, 随机分为空白对照组和佐太给药组, 每组 32 只, 雌雄各半。每天给药 1 次, 给药剂量为  $6.67 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ bw} \cdot \text{day}^{-1}$ , 每 10 g 体重给药体积为 0.2 ml。空白组每日灌胃给予 1% 羧甲基纤维素钠 (CMC)。每周称一次体重, 按体重调整给药量。给药周期为 4.5 个月。

2.2 检测指标 在第 4.5 个月时, 采集每组 KM 小鼠 (32 只) 的血液样品, 其中 16 只动物血液置于 EDTA-K<sub>2</sub> 紫色抗凝管中, 采用全自动血细胞分析仪检测血常规指标, 如: 白细胞计数 (WBC)、中性粒细胞 (NEUT)、淋巴细胞 (LYMPH)、单核细胞 (MONO)、红细胞计数 (RBC)、血红蛋白 (HGB)、红细胞压积 (HCT)、平均红细胞压积 (MCV)、平均红细胞血红蛋白 (MCH)、平均红细胞血红蛋白量浓度 (MCHC)、红细胞分布宽度 [SD

收稿日期: 2012-10-25; 修订日期: 2013-05-08

基金项目: “十一五” 国家科技支撑计划课题 (No. 2007BAI48B02)

作者简介: 朱洪梅 (1985-), 女 (汉族), 山东滨州人, 现为中国科学院研究生院硕士研究生, 学士学位, 主要从事藏药毒理学研究工作。

\* 通讯作者简介: 魏立新 (1967-), 男 (汉族), 山西孟县人, 现任中国科学院西北高原生物研究所研究员, 博士学位, 主要从事藏药药理与毒性评价研究工作。

(RDW - SD)、红细胞分布宽度[CV(RDW - CV)]、血小板计数(PLT)、血小板平均容积(MPV)、血小板压积(PCT)、血小板分布宽度(PDW)、大型血小板比率(P-LCR)。

每组的另 16 只动物血液置于分离胶黄色促凝管中,3 000 r/min 离心 10 min,得到血清,全自动生化分析仪分析肝肾功能血清生化指标,如谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、总胆红素(TBIL)、尿素氮(BUN)、肌酐(Crea)等。

**2.3 病理组织学观察** 在 4.5 个月时,采集空白组和给药组 KM 小鼠的肝脏、肾脏、脾脏、脑,10% 福尔马林溶液固定,制作石蜡病理切片,HE 染色后在光镜下观察各器官的组织学结构变化。

**2.4 统计学方法** 实验结果用  $\bar{x} \pm s$  标示,采用 SPSS16.0 软件进行统计学分析,对于两组数据之间的比较采用 Independent - Samples T Test,多组数据之间的比较采用 One - Way Analysis of Variance(ANOVA)中 Tukey 法,显著性检验( $P < 0.05$ )。

**3 结果**

**3.1 外观体征** 给药组和空白组 KM 小鼠在整个实验过程中被毛光滑,眼、耳、口、鼻无异常分泌物,行为活动正常,饮水、进食、排便未见异常,无明显差异。

**3.2 体质量变化** 在 4.5 个月实验过程中,给药组 KM 小鼠体质量

变化与空白组进行统计学分析,无显著性差异( $P > 0.05$ )。体质量变化结果见表 1。

**3.3 血常规指标** KM 小鼠给药佐太 4.5 个月时的血常规指标检测结果发现,给药组血红细胞平均血红蛋白浓度(MCHC)显著高于空白组( $P < 0.05$ );其他指标均无显著性差异。结果见表 2。

表 1 KM 小鼠给药佐太 4.5 个月体质量变化值( $\bar{x} \pm s$ )

称重时间 /周	体质量/g		称重时间 /周	体质量/g	
	空白组	给药组		空白组	给药组
0	17.06 ± 2.69	16.91 ± 2.49	11	43.30 ± 4.27	42.84 ± 3.87
1	28.22 ± 3.05	27.39 ± 2.38	12	43.62 ± 4.26	43.20 ± 3.86
2	33.10 ± 3.01	32.60 ± 2.54	13	43.64 ± 4.23	43.88 ± 3.97
3	34.56 ± 3.12	34.32 ± 3.37	14	44.26 ± 4.38	44.60 ± 4.47
4	36.84 ± 3.79	36.01 ± 3.21	15	44.55 ± 4.51	45.27 ± 4.66
5	38.11 ± 3.43	37.75 ± 3.45	16	44.85 ± 4.62	45.80 ± 5.17
6	39.50 ± 3.97	38.53 ± 3.93	17	44.65 ± 4.66	46.28 ± 5.08
7	40.23 ± 4.00	39.79 ± 3.68	18	44.87 ± 6.00	47.12 ± 5.43
8	41.24 ± 4.16	40.66 ± 3.70	19	45.58 ± 4.90	46.86 ± 5.42
9	41.34 ± 3.85	40.98 ± 3.72	20	45.94 ± 4.49	47.11 ± 4.35
10	42.74 ± 4.21	42.28 ± 3.63			

n = 32

表 2 KM 小鼠灌胃给药佐太 4.5 个月对血常规的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	WBC/ $\times 10^9 \cdot L^{-1}$	NEUT/ $\times 10^9 \cdot L^{-1}$	LYMPH/ $\times 10^9 \cdot L^{-1}$	MONO/ $\times 10^9 \cdot L^{-1}$	NEUT (%)	LYMPH (%)	MONO (%)	RBC/ $\times 10^{12} \cdot L^{-1}$	HGB/ $g \cdot L^{-1}$	HCT (%)
空白组	3.70 ± 0.93	0.50 ± 0.16	2.58 ± 0.83	0.01 ± 0.01	14.32 ± 4.07	85.42 ± 6.41	0.18 ± 0.25	8.97 ± 0.63	1.36 ± 0.09	42.1 ± 13.16
给药组	3.27 ± 2.11	0.40 ± 0.17	2.86 ± 2.11	0.02 ± 0.01	15.15 ± 10.09	84.50 ± 9.09	0.30 ± 0.60	8.97 ± 0.43	1.35 ± 0.08	47.28 ± 3.36

组别	MCV/ fL	MCH/ pg	MCHC/ $g \cdot L^{-1}$	SD(RDW - SD) /fL	CV(RDW - CV) (%)	PLT/ $\times 10^9 \cdot L^{-1}$	MPV (fL)	PCT (%)	PDW/ fL	P-LCR
空白组	53.68 ± 2.04	15.14 ± 0.63	2.82 ± 0.02	26.76 ± 2.92	17.10 ± 0.80	4.10 ± 0.90	8.10 ± 0.20	0.33 ± 0.07	8.60 ± 0.25	10.54 ± 1.89
给药组	52.68 ± 1.94	15.05 ± 0.17	2.86 ± 0.08*	26.35 ± 2.37	16.80 ± 0.69	4.16 ± 1.37	7.70 ± 0.42	0.32 ± 0.10	8.15 ± 0.52	7.70 ± 3.22

与对照组比, \*  $P < 0.05$ ; n = 16

**3.4 血液生化指标** 给药 4.5 个月时,给药组 KM 小鼠 AST/ALT 显著低于空白组( $P < 0.05$ ),但其他指标(ALT、AST、TBIL、BUN、CREA)均无显著差异。结果见表 3。

表 3 KM 小鼠灌胃给药给药临床剂量佐太对血液生化指标影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	ALT/ $U \cdot L^{-1}$	AST/ $U \cdot L^{-1}$	AST/ ALT	TBIL/ $\mu mol \cdot L^{-1}$	BUN/ $mmol \cdot L^{-1}$	Crea/ $\mu mol \cdot L^{-1}$
空白	56.19 ± 25.39	201.91 ± 87.02	6.14 ± 2.99	1.86 ± 0.32	9.27 ± 1.09	29.96 ± 4.68
给药	73.61 ± 18.50	271.0 ± 148.55	4.62 ± 1.71*	1.87 ± 0.60	10.81 ± 1.45	27.92 ± 5.21

与对照组比, \*  $P < 0.05$ ; n = 16

**3.5 病理组织学观察** 在给药 4.5 个月时,观察 KM 小鼠肝脏、肾脏、脾脏和脑组织病理学切片的显微照片,分别见图 1~4。

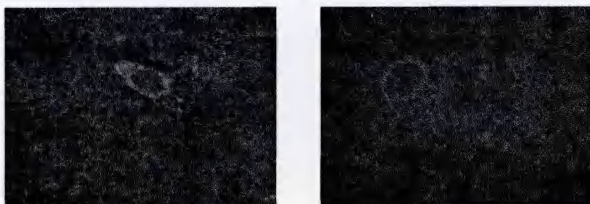


图 1 肝脏组织切片(HE 染色,40 ×, n = 8)

**3.5.1 肝脏** 空白组:动物肝小叶结构正常,肝细胞排列正常,无变性坏死,仅有少数肝细胞浊肿,细胞浆内见小空泡。给药组:肝

脏组织内见出现小灶性炎细胞浸润和间质内淋巴细胞增多,少数肝细胞细胞浆内见小到中等空泡。

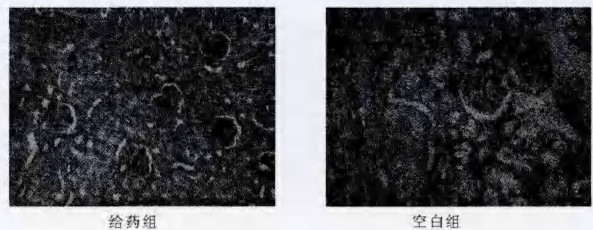


图 2 肾脏组织切片(HE 染色,40 ×, n = 8)

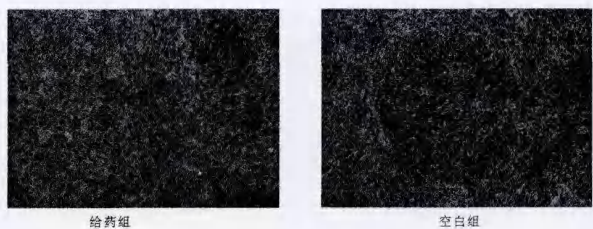


图 3 脾脏组织切片(HE 染色,40 ×, n = 8)

**3.5.2 肾脏** 空白组:肾小球结构正常,近曲小管上皮细胞排列正常,无变性坏死,仅少数细胞浆细颗粒状,多数可见管腔。给药组:肾脏绝大多数肾小球结构正常,少数肾小球体积缩小,肾小囊

狭窄;靠近皮质部的部分近曲小管上皮细胞轻度水肿。

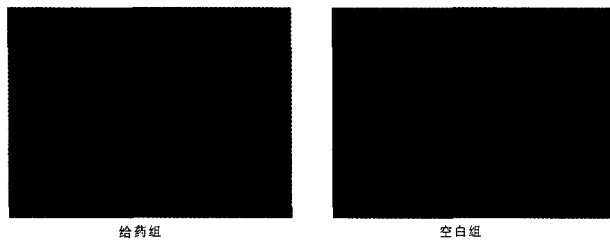


图 4 脑组织切片(HE 染色,40×,n=8)

**3.5.3 脾脏 空白组:**脾小体清楚,红髓、白髓清楚,红髓部分脾索与脾窦清晰,脾小体明区和暗区不易区分,脾中央动脉壁无增厚,脾窦无扩张,脾小体内见少许含铁血黄素。给药组:脾小体数量减少,体积缩小,红髓增宽,脾索细胞增生,明显的含铁血黄素沉积,巨噬细胞增多,出现髓外造血。

**3.5.4 脑 空白组:**大脑皮层各层细胞排列整齐,形态正常,未见明显病变。小脑三层细胞未见明显病变。给药组:大脑皮层各层细胞排列整齐,形态正常,未见明显病变。小脑各层细胞未见明显病变。

#### 4 讨论

在藏药中,水银炮制佐太入药始记于公元 8 世纪藏医药经典巨著《四部医典》,水银炼制佐太技术于公元 13 世纪由藏医药大师邬坚巴·仁钦贝完善成熟,并对藏族药学、方剂学、养生学和制剂工艺学产生了深远的影响。佐太是最为贵重的药物,为藏药之母本,是配制众多珍宝类药物的必需原料,也可配合普通药物以增强药物疗效。佐太在炼制过程中使用了大量的水银,以及金、银、铜、铅、铁和含砷矿物等原辅料,可以说佐太是含重金属藏药的集中典型代表,现代人们很自然地对其用药安全性产生质疑。

本研究对 KM 小鼠以临床等效剂量( $6.67 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ bw} \cdot \text{d}^{-1}$ )给药佐太 4.5 个月,结果发现给药组和空白组小鼠的外观特征、行为特征、体重变化、进食饮水、排粪情况无明显差异。另外,给药组外周血红细胞平均血红蛋白浓度显著高于空白组,但并不可以因此判断佐太像汞中毒一样可以导致大细胞性贫血<sup>[9,10]</sup>,因为其他血常规指标均无显著性差异(如:红细胞数、红细胞分布宽度、粒细胞、血小板和血红蛋白量等),说明给药组受试动物不存

在大细胞性贫血及再生障碍性贫血,对机体造血功能无明显影响。我们还发现 KM 小鼠在临床等效剂量下给药 4.5 个月时 AST/ALT 值出现显著性降低,但由于血清 ALT、AST 及 TBIL 均无显著性变化,因此不具有生理学意义。

病理组织学观察发现,与空白组比较,4.5 个月时给药组小鼠肾脏近曲小管、肝脏和脾脏组织学结构出现了轻微性变化,而脑组织学结构正常,说明长期给药佐太可能会对受试动物的机体产生一定程度的影响,提示含佐太藏药复方制剂服用周期不宜过长,同时也间接证明了含佐太成方制剂传统服药周期(一般为 1 个月或 2 个月之内)和服药方式剂量(通常两天服 1 粒或三天服 1 粒)具有一定的科学性和合理性。

综上所述,KM 小鼠以临床等效剂量给药佐太 4.5 个月,对其外观体征、生长发育状况、血常规指标、肝肾功能血清生化指标、脑组织学结构无明显影响,但可能会对 KM 小鼠肾脏、肝脏和脾脏组织学结构产生一定程度的影响,提示含佐太藏药复方制剂服用周期不宜过长。

#### 参考文献:

- [1] 兰 科. 简述藏药佐太[J]. 中国民族医药杂志,1999,5(增刊):86.
- [2] 王 章. 再述藏药精华“佐塔”[J]. 健康天地(学术版),2010,4(9):84.
- [3] 噶玛曲培,土登格桑,格 琼. 药用水银粉末(坐台)的加工方法[P]. 中国专利:88107006.8,1988-01-15
- [4] 诸国本. 中国民族医药散论[M]. 北京:中国医药科技出版社,2006:334.
- [5] 曾 勇,何毓敏,刘颖等. 藏药佐塔对中枢神经系统的部分药理作用研究[J]. 四川中医,2005,23(11):33.
- [6] 蒋婀娜,张春光,王建华,等. 藏药“佐太”主要药效学研究[J]. 时珍国医国药,2009,20(8):3.
- [7] 陈忠杰,朴香兰,李文虎,等. 藏药佐塔对果蝇寿命的影响[J]. 时珍国医国药,2011,22(2):422.
- [8] 洛桑多吉,贡嘎罗布. 一种藏药材炮制物的质控方法及其新用途[P]. 中国专利:200810093949.5,2008-04-24
- [9] 乌庆超,马怀青,葛芙蓉,等. 汞致单纯红细胞再生障碍性贫血的临床研究[J]. 临床血液学杂志,1998,11(3):113.
- [10] 王景霞,杜玉兰,葛芙蓉,等. 汞中毒并发急性造血功能停滞 3 例[J]. 职业医学,1997,24(4):32.