

DOI 10.19656/j.cnki.1002-2406.20240203

天然朱砂与合成朱砂的催眠药效 及急性毒性比较研究

成剑¹, 袁媛², 彭瑞潭¹, 郁红礼^{2,3,4✉}, 崔小兵²

(1. 精华制药集团股份有限公司, 江苏 南通 226000;

2. 南京中医药大学, 江苏 南京 210023; 3. 江苏省中药炮制重点实验室, 江苏 南京 210023;

4. 国家教育部中药炮制规范化及标准化工程研究中心, 江苏 南京 210023)

【摘要】目的:比较天然朱砂与合成朱砂的药效及急性毒性差异。方法:采用水合氯醛阈上催眠实验模型,以小鼠睡眠潜伏期及睡眠时长为指标,考察两种朱砂的催眠作用药效是否存在差异;以最大给药浓度和最大给药体积(48 g/kg)进行灌胃给药,观察两种朱砂的小鼠急性毒性反应;以小鼠体质量、小鼠脏器指数为指标,并观察小鼠不同脏器组织病理切片,观察两种朱砂对不同脏器毒性的影响。结果:水合氯醛催眠实验模型显示,不同剂量的天然朱砂与合成朱砂(16.67、83.33 mg/kg)均可延长水合氯醛诱导的小鼠睡眠时长,表明两种朱砂均具有催眠作用。在一次性灌胃600倍临床用药最大剂量(48 g/kg)情况下,两种朱砂均对小鼠无急性毒性作用,小鼠体质量、小鼠脏器指数与空白组比较无显著性差异,对各脏器均未产生明显毒性。结论:天然朱砂与合成朱砂均具有催眠作用,药效无显著性差异,且均无明显急性毒性作用。

【关键词】天然朱砂;合成朱砂;催眠药效;急性毒性

【引用格式】

成剑,袁媛,彭瑞潭,等.天然朱砂与合成朱砂的催眠药效及急性毒性比较研究[J].中医药信息,2024,41(2):16-20,25.

CHENG J, YUAN Y, PENG R T, et al. Comparative study on hypnotic efficacy and acute toxicity of natural and synthetic cinnabar[J]. Information on TCM, 2024, 41(2):16-20,25.

朱砂(cinnabar)原名丹砂,始载《神农本草经》,别名辰砂,为天然矿物类辰砂族辰砂,主要化学成分为HgS,主产于湖南、贵州等地,其味甘,性微寒,可安神定惊,常用于心悸失眠等症^[1-2]。2020版《中华人民共和国药典》记载的朱砂来源为天然矿物辰砂,历代文献亦记载以天然朱砂作为药用朱砂的来源。目前市场流通的朱砂除天然朱砂外亦有不少合成朱砂,合成朱砂又称灵砂,是以水银、硫黄为原料经加热升华而成^[3]。朱砂药材经水飞法炮制成药粉后方可入药^[1]。课题组前期研究发现,天然朱砂与合成朱砂在水飞后粉末的外观性状、HgS含量及晶型、物相构成方面均无明显差

异^[4]。国家环境保护部在2017年8月发布《关于汞的水俣公约》生效的公告,公告事项包括2032年8月起全面禁止原生汞矿开采^[5],药用朱砂面临资源短缺的危机。合成朱砂能否作为天然朱砂的替代品,两者药效和毒性有无差异目前未见相关报道。笔者采用水合氯醛阈上催眠试验及小鼠急性毒性试验,比较两种朱砂的药效及毒性差异,以期朱砂的临床应用提供依据。

1 实验仪器与材料

1.1 仪器与试剂

电子分析天平(美国奥豪斯公司,型号:CAV-64C);台式离心机(德国Sigma公司,型号:3-16PK);

基金项目:江西省“双千计划”项目(S2019CXTD2300)

第一作者简介:成剑(1979-),男,工程师,主要从事中药生产管理与经营工作。

✉通信作者简介:郁红礼(1981-),女,副教授,主要从事中药炮制解毒科学内涵及饮片质量控制研究工作。

超纯水机(美国 Millipore 公司, 型号: Spring-R10); 高速冷冻离心机(美国 Thermo 公司, 型号: ST8R); 光学显微镜(日本奥林巴斯公司, 型号: CX31)。

水合氯醛(国药集团化学试剂有限公司, 批号: 20150508); 0.9% 生理盐水(辰欣药业, 批号: 1711112703); 地西泮(山东信谊制药有限公司, 批号: H37023039); 4% 多聚甲醛(Biosharp, 批号: BL539A); 羧甲基纤维素钠(国药集团化学试剂有限公司, 批号: 20170810)。

天然朱砂[保和堂(亳州)制药有限公司/湖南凤凰, 批号: 20210311]; 合成朱砂[保和堂(亳州)制药有限公司/贵州万山, 批号: 20210311]。经江苏省食品药品检验研究员胡皓彬主任中药师鉴定为硫化物类矿物辰砂族辰砂及合成朱砂。采用 2020 版《中华人民共和国药典》一部中朱砂含量测定项 HgS 含量测定方法, 测定两种朱砂 HgS 含量, 分别为 98.57%、99.58%, 符合规定。

1.2 实验动物

催眠实验使用 SPF 级 ICR 雄性小鼠 36 只, 体质量 18~20 g。急性毒性实验使用 SPF 级 ICR 小鼠 30 只, 体质量 18~20 g, 雌雄各半。购自江苏华创信诺医药科技有限公司, 合格证编号: SCXK(苏)2018-0049。实验动物饲养于南京中医药大学实验动物中心, 湿度 45%~55%, 室温 22~25℃, 12 h 明暗交替, 自由饮水进食。

2 方法

2.1 朱砂的水飞炮制

朱砂药材参考 2020 版《中华人民共和国药典》方法, 将天然朱砂和合成朱砂净制, 称取适量置于乳钵内, 加 5 倍量水研磨至糊状, 加 1:50 倍水搅拌, 停留 6 min, 倾出混悬液, 下沉的粗粉继续研磨, 每次研磨 30 min。如此反复 4 次以上, 直至手捻细腻, 无亮星为止, 弃去杂质, 合并倾出的混悬液静置 8 h 以上, 倾去上清液, 取沉淀置 40~60℃ 干燥, 研散后过九号筛。

2.2 水合氯醛阈上催眠实验

雄性小鼠 36 只, 按体质量随机分为 6 组, 每组 6 只, 分别为空白组(KB)、阳性药组(Y)、天然朱砂低剂量(TD)、天然朱砂高剂量组(TG)、合成朱砂低剂量组(RD)、合成朱砂高剂量组(RG)。按照临床剂量计算, 天然朱砂和合成朱砂高、低剂量组给药剂量分别为 83.33、16.67 mg/kg; 空白组灌胃等量 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液; 阳性药组给予 2.5 mg/kg 地西泮。各组均每日给药 1 次, 连续给药 7 d。最后一次给药前禁食不禁水 12 h, 末次给药 30 min 后腹腔注射 0.38 mg/g 水合氯醛溶液^[6]。比较各组药物对小鼠睡眠潜伏期(腹腔

注射后到翻正反应消失的时间)和睡眠时长(小鼠翻正反射消失到重新恢复的时长)的影响。

2.3 急性毒性实验研究

2.3.1 最大受试药物量实验

参考《中药、天然药急性毒性研究技术指导原则》, 实验给药前小鼠禁食 12 h, 不禁水, 将朱砂样品以 0.5% 的羧甲基纤维素钠助悬, 配置成混悬液, 浓度为 0.6 g/mL(可均匀混淆的最大浓度)。

将小鼠按性别、体质量随机分成空白组、天然朱砂组和合成朱砂组, 每组 10 只, 雌雄分笼饲养。实验前 12 h 禁食不禁水, 给药组每只小鼠按照给药量为 48 g/kg(按照体表面积折算约为 60 kg 人临床推荐日剂量的 600 倍), 以灌胃量为 20 mL/kg 进行灌胃给药, 分 2 次给药; 对照组给予等体积的羧甲基纤维素钠溶液。给药后 24 h 内观察小鼠生理状态, 包括小鼠精神状态、活动变化、进食情况及小鼠死亡只数。若发现小鼠死亡, 则立刻解剖小鼠观察脏器的病理变化。若小鼠无死亡, 则正常喂养, 连续观察 14 d, 每隔两天测定小鼠体质量及摄食量, 实验结束后, 将小鼠脱颈处死, 取肝、脾、肾, 观察是否有肉眼可见的病理变化, 再用生理盐水冲洗, 用滤纸吸干后称重, 计算脏器系数^[2]。

脏器系数(%)=小鼠脏器重量/体质量×100%

2.3.2 病理学检查

每组随机抽取 5 只小鼠的肝、肾组织, 用 4% 多聚甲醛固定, 通过苏木精-伊红(HE)的组织染色评估各组织病理病变情况。

2.4 统计学方法

采用 SPSS25.0 统计软件对数据进行统计分析, 以独立样本 *t* 检验进行显著性差异比较, 结果以($\bar{x} \pm s$)表示。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 各组小鼠睡眠潜伏期及睡眠时长比较

与空白组比较, 阳性药组能极显著延长小鼠睡眠时长($P < 0.01$), 天然朱砂与合成朱砂高、低剂量组均能显著延长水合氯醛催眠小鼠的睡眠时长($P < 0.05$), 两种朱砂药效没有显著差异, 相同剂量的两种朱砂催眠作用也没有显著性差异。阳性药组能显著缩短小鼠睡眠潜伏期($P < 0.01$), 不同剂量的两种朱砂均无法缩短小鼠睡眠潜伏期。结果见表 1 和图 1~2。

3.2 急性毒性实验结果比较

3.2.1 小鼠生存状态观察

小鼠给药 1 h 以内, 小鼠活动次数减少, 待 1 h 之后, 小鼠外观和精神状态正常, 饲养两周内, 给药组小鼠与空白组小鼠比较, 排泄正常, 摄食正常, 无小鼠死

亡。一般情况、行为、活动、粪便、皮毛均未见异常,所有动物均存活,动物未出现呼吸抑制、惊厥、抽搐等反应。朱砂组体质量与对照组无显著差异,大体解剖未见脏器异常病变。

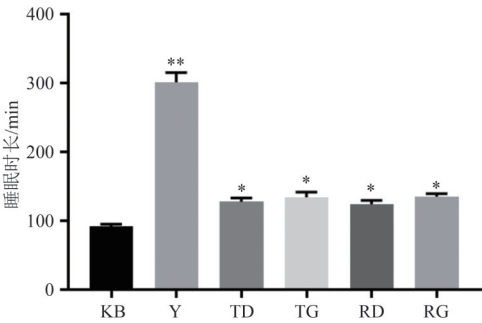
表 1 各组小鼠睡眠潜伏期及睡眠时长的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量/(mg/kg)	睡眠潜伏期/min	睡眠时长/min
空白组	6	—	4.44 ± 1.16	91.36 ± 7.53
阳性药组	6	2.50	2.78 ± 0.67*	300.75 ± 31.46**
天然朱砂低剂量组	6	16.67	4.28 ± 0.91	127.61 ± 11.09*
合成朱砂低剂量组	6	16.67	4.43 ± 0.86	133.84 ± 16.80*
天然朱砂高剂量组	6	83.33	4.56 ± 1.68	123.78 ± 13.07*
合成朱砂高剂量组	6	83.33	5.23 ± 1.96	134.86 ± 13.34*

注:与空白组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

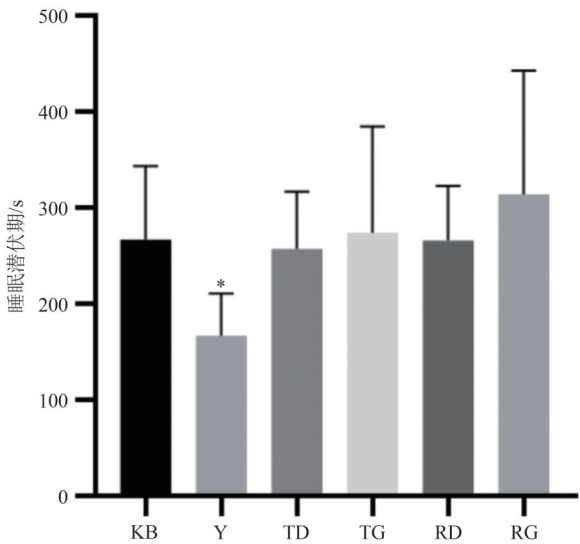
3.2.2 最大受试药物量实验给药后小鼠体质量变化情况比较

各组小鼠给药均未出现死亡现象,与空白组比较,小鼠给药后体质量差异无统计学意义,表明两种朱砂并未影响小鼠体质量增长,也无小鼠急性中毒现象。结果见表 2 和图 3。



注:KB 为空白组;Y 为阳性药组;TD 为天然朱砂低剂量组;TG 为天然朱砂高剂量组;RD 为合成朱砂低剂量组;RG 为合成朱砂高剂量组。与空白组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

图 1 各组小鼠睡眠时长比较

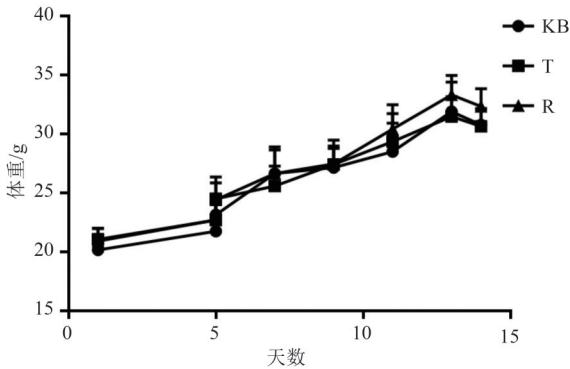


注:KB 为空白组;Y 为阳性药组;TD 为天然朱砂低剂量组;TG 为天然朱砂高剂量组;RD 为合成朱砂低剂量组;RG 为合成朱砂高剂量组。与空白组比较,* $P < 0.05$ 。

图 2 各组小鼠睡眠潜伏期比较

表 2 最大受试药物量实验给药后各组小鼠体质量变化情况比较($\bar{x} \pm s, g$)

组别	n	第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 7 天	第 9 天	第 11 天	第 13 天	第 14 天
空白组	10	20.15 ± 1.23	21.74 ± 3.33	23.14 ± 1.56	26.63 ± 2.14	27.14 ± 5.21	28.49 ± 3.07	31.89 ± 2.37	30.76 ± 5.33
天然朱砂组	10	21.06 ± 3.89	22.70 ± 1.23	24.48 ± 1.29	25.57 ± 2.60	27.41 ± 1.49	29.33 ± 3.50	31.47 ± 5.60	30.63 ± 4.31
合成朱砂组	10	20.91 ± 2.02	22.69 ± 2.38	24.41 ± 5.84	26.63 ± 2.90	27.45 ± 3.24	30.40 ± 2.97	33.30 ± 2.57	32.32 ± 3.41



注:KB 为空白组;T 为天然朱砂组;R 为合成朱砂组。

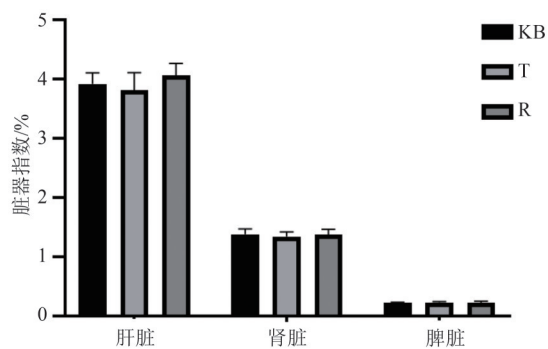
图 3 最大受试药物量实验给药后小鼠体质量变化情况比较

3.2.3 最大受试药物量实验给药后小鼠脏器指数比较

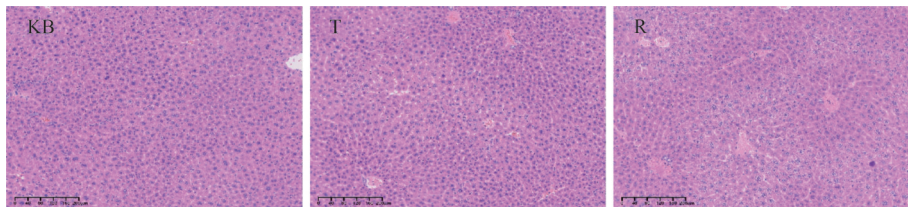
与空白组比较,各给药组小鼠脏器指数差异无统计学意义,表明两种朱砂在 600 倍临床给药剂量下无急性毒性。结果见表 3、图 4。

表 3 最大受试药物量实验给药后各组小鼠脏器指数情况比较($\bar{x} \pm s, \%$)

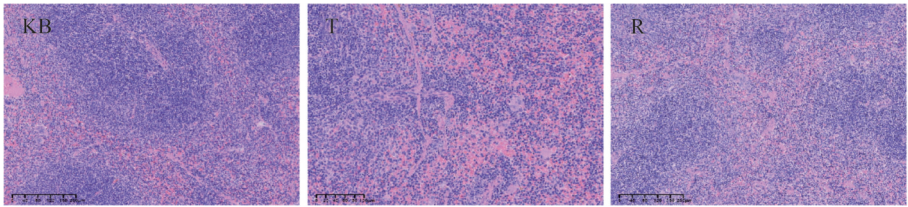
组别	n	肝脏指数	肾脏指数	脾脏指数
空白组	10	3.934 ± 0.178	1.375 ± 0.090	0.221 ± 0.012
天然朱砂组	10	3.806 ± 0.033	1.341 ± 0.073	0.229 ± 0.016
合成朱砂组	10	4.055 ± 0.195	1.368 ± 0.086	0.222 ± 0.024



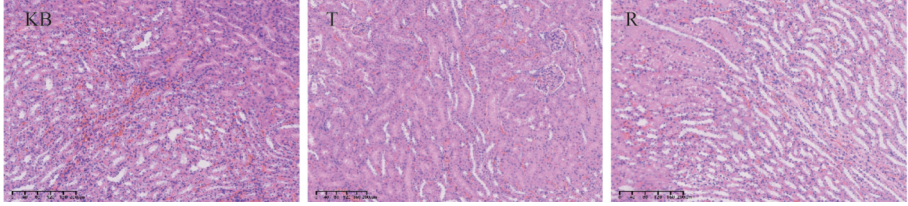
注:KB为空白组;T为天然朱砂组;R为合成朱砂组。
图4 最大受试药物量实验给药后各组小鼠脏器指数比较



注:KB为空白组;T为天然朱砂组;R为合成朱砂组。
图5 各组小鼠肝组织病理切片(HE,×200)



注:KB为空白组;T为天然朱砂组;R为合成朱砂组。
图6 各组小鼠脾组织病理切片(HE,×200)



注:KB为空白组;T为天然朱砂组;R为合成朱砂组。
图7 各组小鼠肾组织病理切片(HE,×200)

4 讨论

朱砂是临床常用安神药^[7]。《中华人民共和国药典》记载朱砂来源为硫化物类矿物辰砂族辰砂,但市场流通大量合成朱砂。我国制备人工合成朱砂的历史久远,古籍中早有记载,并将其分为灵砂和银朱两种^[3]。灵砂始载于《证类本草》,曰:“用水银一两,硫黄六铢,细研,先炒作育砂头,后入水火既济炉,抽之如束针纹者,成就也”;《本草纲目》载:“升灵砂法,用新锅安逍遥炉上,密揩锅底,文火下烧,入硫黄二两熔化,投水银半斤,以铁匙急搅,作青砂头。如有焰起,喷醋解之。待汞不见星,取出细研,盛水火鼎内,盐泥固封,下以自然火升之,干水十二盏为度,取出如针束者成矣”^[3,8-9]。银朱首见李时珍引胡演《丹药秘诀》

3.2.4 最大受试药物量实验给药后小鼠脏器组织病理学结果比较

空白组、天然朱砂组及合成朱砂组小鼠肝、肾、脾脏器组织细胞排列整齐,无异常病理改变,肝小叶结构清晰,肝细胞无变性坏死现象;肾小球结构清晰,肾小管结构无显著病变坏死;脾小体结构清晰,可见中央动脉,白髓、红髓边界较为清晰。可见,临床最大给药剂量的600倍下,天然朱砂及合成朱砂均不会引起小鼠急性毒性反应,两者均无急性毒性。结果见图5~7。

曰:“升炼银朱,用石亭脂二斤,新锅内熔化,次下水银一斤,炒作青砂头,炒不见星。研末罐盛,石版盖住,铁线缚定,盐泥固济,大火锻之。待冷取出,贴罐者为银朱,贴口者为丹砂”^[3,8]。灵砂升炼火力缓和,烧的时间长,质量较纯。银朱可能含有一定量的硒、砷、游离汞、单质硫等物质,纯度相对低^[3]。通过本草考证和文献查阅,研究认为朱砂、灵砂、银朱不是同一中药,且在病症、用法及用量上应对三种药材进行使用范畴规定^[10]。古籍中对三种药材的基原、性味归经、功效总结见表4。

市场流通主要是灵砂即水银和硫黄合成的合成品。但目前尚未见系统评价天然朱砂和合成朱砂药效或毒性差异的研究。

表 4 朱砂、灵砂、银朱基原、性味归经、功效对比

来源	品名	基原	性味归经	功效
合成朱砂	灵砂	水银与硫磺(约 4:1)加热升华	性甘,温;有毒;归心、胃经	祛痰,降逆,安神,定惊。主治头晕吐逆,反胃,小儿惊吐噎膈,心腹冷痛,心悸,怔忡,失眠
合成朱砂	银朱	水银与石亭脂(约 1:2)加热合成	性辛,温;有毒;归心、肺经	攻毒,杀虫,燥湿,祛痰。主治痈疽,肿毒,溃疡,湿疮,疥癣,结胸,小儿惊吐
天然朱砂	朱砂	天然硫化物类矿物辰砂族辰砂	性甘,微寒;有毒;归心经	清心镇惊,安神,明目,解毒。主治心烦,失眠、惊悸,癫狂,目昏,疮疡肿毒

笔者通过观察腹腔注射水合氯醛阈后小鼠的睡眠潜伏期、睡眠时长等,比较天然朱砂与合成朱砂镇静催眠活性。结果表明,不同剂量下两种朱砂均可显著延长水合氯醛诱导的小鼠睡眠时长,相同剂量天然朱砂和合成朱砂之间比较差异无统计学意义,即天然朱砂与合成朱砂明均具有催眠作用,且两者药效无显著性差异。查阅历代版本《中华人民共和国药典》发现,朱砂临床使用最大剂量曾大幅度降低,为了保证朱砂临床应用的安全性,1995 版《中华人民共和国药典》以后,朱砂临床应用剂量由每天 0.3~1.5 g(1977、1985、1990 年版)下降为 0.1~0.5 g,并一直沿用至今,因此本研究中高剂量给药组对水合氯醛催眠小鼠的睡眠时长无剂量差异,可能是由于朱砂最高临床用药剂量的降低引起的血药浓度降低,从而导致剂量依赖性不明显。

本研究采用最大受试药物量实验一次性灌胃临床用药 600 倍最大剂量(48 g/kg)条件下的朱砂的急性毒性作用,发现两种朱砂均对小鼠无急性毒性作用,小鼠体质量、小鼠脏器指数与空白组比较差异无统计学意义,肝、肾、脾等脏器指数无显著性差异,且解剖时各脏器未发现明显病理变化,组织病理学检查显示两者对各脏器均未产生明显毒性。Hg²⁺是朱砂中主要毒性物质^[11-12],本研究急性毒性实验结果显示,两种朱砂均无明显急性毒性,这可能与朱砂水飞过程中大量水处理将可溶性毒性物质溶出,朱砂中毒性成分含量显著降低有关。

5 结论

本文研究表明,天然朱砂与合成朱砂均具有催眠

作用,且药效无显著性差异,两种朱砂均无明显急性毒性作用。

【参考文献】

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:143.

[2] 杨丹,刘圣金,燕珂,等. 朱砂药材及饮片 X 射线衍射 Fourier 指纹图谱研究[J]. 中药材,2018,41(12):2767-2773.

[3] 郑末晶,吴桂芝,于奇燕. 朱砂、灵砂、银朱考[J]. 中药材,1989,12(12):47-49.

[4] 袁媛. 天然朱砂与人工合成朱砂质量比较研究[D]. 南京:南京中医药大学,2023:5-20.

[5] 环境保护部,外交部,发展改革委,等.《关于汞的水俣公约》生效公告[EB/OL]. (2017-08-15) [2023-04-20]. http://xxgk.sdein.gov.cn/xxgkml/wrfz/201710/t20171024_1124214.html.

[6] 康永,李先荣,程霞,等. 朱砂对中枢神经系统某些药理作用的研究及其毒性观察[J]. 时珍国医国药,1998,9(6):57-58.

[7] 王辰洋,金鹏飞,胡欣. ICP-MS 法研究含朱砂中成药中的汞元素在人工胃液中的溶出特性[J]. 药学研究,2022,41(3):153-157.

[8] 曾俊超,何玉泉. 试谈辰砂及其人工合成[J]. 成都中医学院学报,1982,8(1):59-61.

[9] 夏晶,曹帅,吴赵云,等. 药用朱砂的基源考证及实地调研[J]. 时珍国医国药,2012,23(5):1269-1272.

[10] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海:上海科学技术出版社,1998.

[11] 康峰,吴琨,何海洋,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] 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):219-223.

(收稿日期:2023-08-16)

Comparative Study on Hypnotic Efficacy and Acute Toxicity of Natural and Synthetic Cinnabar

CHENG Jian¹, YUAN Yuan², PENG Ruitan¹, YU Hongli^{2,3,4✉}, CUI Xiaobing²

(1. Jinghua Pharmaceutical Group Co., Ltd., Nantong 226000, China; 2. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China; 3. Key Laboratory of Chinese Medicine Processing of Jiangsu Province, Nanjing 210023, China; 4. Engineering Center of State Ministry of Education for Standardization of Chinese Medicine Processing, Nanjing 210023, China)

【Abstract】Objective: To compare the efficacy and toxicity of natural cinnabar and synthetic cinnabar.
(下转第 25 页)