

中药中汞的形态分析方法、生物有效性与毒性效应研究^{*}

张 雨¹ 史建波² 何 滨^{2**}

(1. 中国中医科学院望京医院, 北京, 100102;

2. 中国科学院生态环境研究中心, 环境化学与生态毒理学国家重点实验室, 北京, 100085)

摘 要 朱砂作为许多传统中药的有效成分, 在我国已有数千年的应用历史. 然而, 这些中药中超标的汞含量已成为近年来中药出口的最大壁垒. 研究中药中汞的赋存形态及不同形态的毒性效应和生物有效性, 有助于辩证地理解中药中汞含量与毒性效应的关系, 为科学地制定中药中汞的限量标准提供有力的依据.

关键词 汞, 中药, 形态, 毒性效应, 生物有效性.

汞与我国数千年的文化历史有着不解之缘, 与传统的中医中药更是密切相关. 早在 2000 多年前, 我国药理学经典著作《神农本草经》里就已经有了使用朱砂或辰砂(主要成分为 HgS) 作为中药有效成分的记载. 许多含朱砂的医方如朱砂安神丸之于失眠, 红升丹之于褥疮, 汞撒利茶碱之于利尿都有显著的效果. 然而, 随着现代科学的发展, 人们发现部分中药里汞的总量远远高于各国制定的食品或环境介质中汞的限量值, 从而产生许多疑问和争议, 给中药的疗效与毒性评价带来很大困难.

传统的中药毒性评价方法存在着明显的误区: 1) 忽视了元素不同形态的毒性、疗效和生物有效性. 现代研究已经证明, 不同形态汞的毒性差别很大, 如甲基汞的毒性是无机汞的 100 倍以上, 而且甲基汞具有亲脂性, 更容易和生物体结合, 穿过细胞膜和血脑屏障. 2) 忽视了元素的生物有效性. 食品、环境或中药中金属元素依其不同的生物有效性而呈现不同的生物效应. 只有生物有效的部分, 才可能与生物体结合, 进入不同的靶器官, 产生毒性作用或疗效.

本文拟探讨中药中汞的形态测定、生物有效性及其毒性评价, 以期辩证理解中药中金属总量和形态及效应之间的关系, 促进这一问题的深入研究, 为科学制定含汞中药的技术标准提供一定依据.

1 中药中汞的形态分析方法

汞可以元素汞、无机汞和有机汞等多种形态广泛存在于各种环境介质中, 如 Hg^0 (元素汞)、 Hg^+ (一价汞)、 Hg^{2+} (二价汞)、 CH_3Hg^+ (甲基汞)、 $\text{C}_2\text{H}_5\text{Hg}^+$ (乙基汞)、 $(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$ (二甲基汞) 和 $\text{C}_6\text{H}_5\text{Hg}^+$ (苯基汞) 等. 中药中汞主要以硫化汞等无机汞的形态存在, 目前还没有关于中药中有机汞形态的报道.

色谱与原子光谱联用是汞形态分析最有效的技术. 因为各种色谱技术如 GC(气相色谱)、HPLC(高效液相色谱) 和 CE(毛细管电泳) 等具备分离各种不同形态汞的能力, 而各种原子光谱技术如: AAS(原子吸收光谱)、AFS(原子荧光光谱) 和 ICP-MS(电感耦合等离子体质谱) 等都是汞测定最为灵敏和常用的检测手段.

1.1 气相色谱

早期用于汞形态分析的联用技术是气相色谱与原子吸收光谱的联用^[1-2]. 这种方法操作简便, 价格低廉, 应用非常广泛. 近年来, 原子吸收光谱逐渐被灵敏度更高的原子荧光光谱和电感耦合等离子体质谱所代替. Shi 等^[3] 发展了气相色谱和原子荧光在线联用测定 MeHg (甲基汞) 和 EtHg (乙基汞) 的方法, 在最佳仪器条件下, 甲基汞和乙基汞的绝对检出限 (3σ) 可达 0.005 ng , 如图 1 所示. Carrasco^[4] 等通过 SPME-GC-AFS(固相微萃取-气相色谱-原子荧光光谱) 联用系统同时检测了甲基汞和乙基汞, 各形态的汞化合物经过 SPME 的富集、GC 的分离后高温裂解为元素汞, 最后由 AFS 检测定量. 经优化后, 该联

2011 年 7 月 8 日收稿.

^{*} 国家自然科学基金项目(21075130; 20807047) 资助.

^{**} 通讯联系人, E-mail: bhe@rcees.ac.cn

用系统的检测限可以达到 $0.04 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (甲基汞) 和 $0.13 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (乙基汞). Chung 等^[5]把食品经过酶解和酸解之后采用 GC-ICP-MS 联用系统检测, 甲基汞和乙基汞的检出限都达到 $0.3 \text{ }\mu\text{g Hg}\cdot\text{kg}^{-1}$.

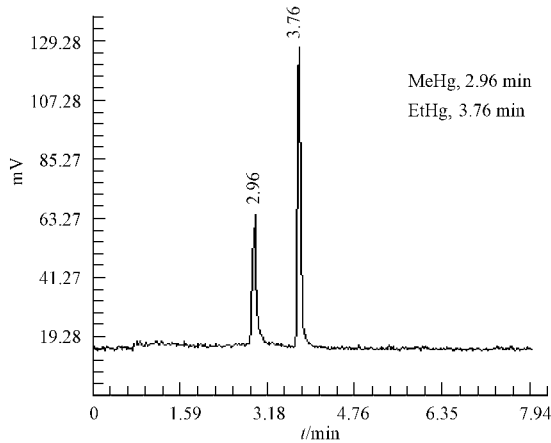


图1 GC-AFS 联用测定甲基汞和乙基汞($20 \text{ ng Hg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 标准溶液)^[3]
Fig.1 GC-AFS chromatogram of MMC and EMC ($20 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ standard solution)^[3]

1.2 液相色谱

高效液相色谱(HPLC) 在常温下实现化合物的分离,对于易挥发、热不稳定的化合物可不经衍生而直接测定,一般的液态样品,如水样和尿样等经过简单处理后即可测定,从而减少了在衍生过程中带来的沾污和形态的相互转化. 根据分析物的性质,液相色谱柱的固定相、流动相、pH 及分离模式等均有较多选择. 此外, HPLC 与 AFS、ICP-MS 等检测器的接口简单,更利于方法的普及. Liang 等^[6]发展了一种高效液相色谱-微波消解-原子荧光光谱在线联用系统,如图 2 所示. 该系统灵敏稳定,可同时检测无机汞、甲基汞、乙基汞和苯基汞等多种汞的形态,检出限可以达到 0.30 ng (无机汞)、 0.20 ng (甲基汞)、 0.17 ng (乙基汞) 和 0.14 ng (苯基汞). HPLC 和 ICP-MS 的接口更为简单,抗干扰能力强,经分离后的样品不需要消解过程即可由 ICP-MS 检测. Morton 等^[7]采用 HPLC-ICP-MS 联用技术分析检测人头发样品中的甲基汞和无机汞,这两种化合物在 10 min 内即可达到基线分离,可用于甲基汞的快速分析.

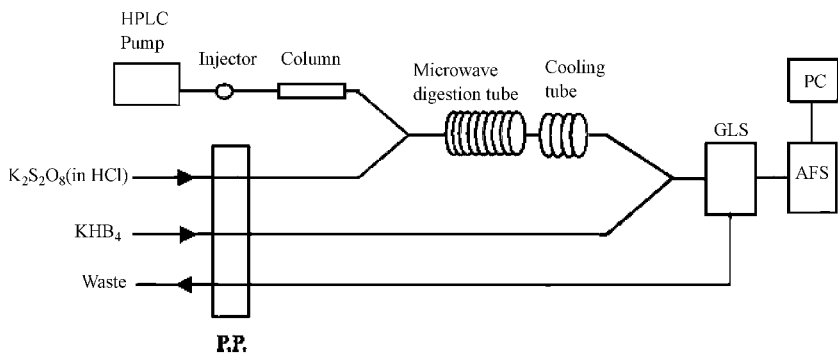


图2 HPLC-AFS 在线联用装置示意图^[6]
Fig.2 Schematic diagram of HPLC-AFS hyphenation system^[6]

1.3 毛细管电泳

快速、高效分离和进样量小是毛细管电泳的主要优点,另外,待分离的化合物与固定相之间没有相互作用,与其它色谱方法相比能够减少干扰. Yan 等^[8]发展了一种 HSMEOF-CE-VSG-AFS(Hydrostatically Modified Electroosmotic Flow Capillary Electrophoresis-Volatile Species Generation-Atomic Fluorescence Spectrometry 静力学电渗流改性毛细管电泳-蒸气发生-原子荧光光谱) 联用方法,经优化后,在进样量为 150 nL 时,4 种汞化合物的检出限可以达到 $15.9 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (乙基汞)、 $16.5 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (甲基汞)、 $13.3 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (苯基汞) 和 $6.8 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (无机汞). CE 应用于汞形态分析的研究相对较少,联用的性能还有待进一步

提高。

2 汞的生物有效性

生物有效性,又叫生物利用度或者生物利用率,在药理学上是指所服用药物的剂量部分能达到体循环,是药物的一种动力学特征。从药理学角度,当药物以静脉注射时,它的利用度是100%。但是当药物以其它方式服用时,如口服,它的利用度因不完全吸收等原因而下降。生物利用度是药物动力学的一个重要工具,在计算非静脉注射的药物剂量时具有重要的参考价值。

汞的生物有效性不仅与其化学形态相关,还与其在样品中的结合状态(即物理状态)密切相关。一些性质足够稳定的形态或者络合物很难被生物体吸收和转化,这部分汞的生物有效性及毒性较低。水溶态的汞则很容易被生物体吸收,对人体危害很大,而有机汞则更容易和生物体结合。

近年来,体外消化液萃取法被越来越多地用来评估重金属的生物有效性。该方法是指在体外利用从生物体提取或人工配制的模拟消化液(如模拟消化液中的氨基酸和蛋白质组成)萃取食物或药物中的有毒物质,模拟有毒物质在消化道内吸收的生理过程,以估测污染物的生物可利用性^[9]。这种方法比简单的用酸萃取来评估重金属的有效性更加科学和可靠。现在研究普遍认为,体外消化液萃取是一个消化液与金属的配位络合的过程,而不是一个酶促反应过程^[10-12],巯基是汞在消化液中的主要结合位点,含有巯基的半胱氨酸、多肽、蛋白质是络合萃取汞的主要物质,它们在消化液中的浓度也会影响汞的生物有效性评价^[9]。Gray等^[13]在体外模拟人体不同的消化液来萃取汞矿矿灰中的汞,进而评估吸入或者摄入矿灰对人体造成的潜在危害。结果表明,使用人工胃液、肺液、血清和pH值为5的水溶液来萃取矿灰,提取出汞的浓度分别为 $6200\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $9200\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $1600\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $880\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,说明吸入或者摄入汞矿灰会导致人体内汞浓度的上升,尤其是通过直接摄入的方式。

2006年英国药品与卫生制品监督署发现一种名叫“复方芦荟胶囊”的药品中汞含量超过英国标准11.7万倍,主要是因为这种药物的主要成分中含有朱砂。但是庞京团等^[14]的研究表明,复方芦荟胶囊中汞的含量虽然高达 $(11.7 \pm 0.4)\%$,利用体外消化透析法得出在胃模拟环境中汞溶出率仅为 $(1.36 \pm 0.06)\%$,肠模拟条件下汞溶出率为 $(0.46 \pm 0.03)\%$,而且研究中还发现芦荟能够很显著地抑制朱砂中汞的溶出。这一研究说明复方芦荟胶囊中汞的含量较高,长期服用会存在一定的潜在健康风险,但是其生物利用率低,对于人体的危害会大大低于预期。

3 中药中汞的毒性效应及其评价

自20世纪日本爆发水俣病事件之后,汞的毒性受到了广泛的关注,尤其是甲基汞。汞及其化合物都是毒性很强的物质,它们的潜在影响正在被人们所了解,致毒机理也正在被深入研究。

大剂量汞蒸气中毒事件和汞蒸气毒性的研究表明汞蒸气中毒会对人的认知、感官、性格和运动神经功能产生不利影响。Smith等^[15]在研究中发现当工人暴露在汞浓度大于 $0.1\ \text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$ 的空气中,会出现明显的中枢神经系统功能紊乱的症状,且尿液中汞的含量大于 $300\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。除了影响神经系统外,汞蒸气和无机汞还会对肾脏、呼吸系统、心血管系统、免疫系统、生殖系统等造成影响^[16]。甲基汞的脂溶性要强于无机汞,更容易被人体吸收而造成危害,已成为近年来毒性被研究最多的一种化合物。甲基汞具有极强的毒性,神经系统是它的主要靶器官。成年人暴露于甲基汞后,会出现视觉模糊、语言障碍、运动失调等症状,最终昏迷和死亡^[17]。相对于成年人,儿童正在发展中的神经系统对于甲基汞更加敏感。除了职业暴露、污染源泄漏、牙齿填料中的汞齐暴露等方式外,由于服用含汞中药造成的汞暴露也是一个不可忽视的途径。曾有病人因为误食或者听信民间偏方而导致汞中毒,出现站立不稳、乏力、睡眠障碍、肾功能损伤等症状,且尿汞含量严重超过正常值^[18-20]。安宫牛黄丸是我国传统中药中的一种急症用药,具有清热解毒、豁痰开窍之功效,是治疗高热神昏、中风痰迷的有效药物,但是其成分中含有雄黄和朱砂,服用后对人体具有潜在的危害,这就引起人们对其毒性的关注。Lu等^[21]用同样汞剂量的安宫牛黄丸、朱砂、氯化汞暴露小鼠,发现经氯化汞暴露后的小鼠肝脏和肾脏中汞的浓度是分别是朱砂暴露的400倍和30倍;组织病理学切片发现,经氯化汞暴露后的小鼠肝脏和肾脏受到中等程度的损伤,而用朱砂和安宫牛黄丸暴露的小鼠肝脏和肾脏受到较小的损伤或者完全没有损伤。这表明安宫牛黄丸、朱砂等

中药中汞的毒性要低于预期(相比于其中汞的浓度),但是长期服用仍有可能对人体造成危害。

4 结论

中医是我国传统文化的一部分,它承载着我国古代人民同疾病作斗争的经验和理论知识。近年来中药的现代研究取得大量成果,中药的基本理论得到了系统、全面整理,对其化学成分也进行了广泛的研究,并建立了中药病理学。我们不能盲目听信民间“偏方”的神奇疗效而乱服误服中药,也不能因为中药的副作用而完全否定其疗效,应该以一种科学辩证的态度来看待中药。目前还没有关于中药中有机汞的报道,这可能是由于中药中不含有有机汞或者有机汞的含量极低,以现有的分析手段还不能实现中药中有机汞的检测。这方面的工作有待进一步研究,为我国中医药学的发展、制定并完善相关标准,规范中药的使用提供技术支持。

参 考 文 献

- [1] Jiang G B, Ni Z M, Wang S R, et al. Determination of organomercurials in air by gas chromatography atomic absorption spectrometry [J]. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 1989, 4(4): 315-318
- [2] Jiang G B, Ni Z M, Wang S R, et al. Organic mercury speciation in fish by capillary gas-chromatography interfaced with atomic-absorption spectrometry [J]. *Fresenius Zeitschrift Fur Analytische Chemie*, 1989, 334(1): 27-30
- [3] 史建波, 廖春阳, 王亚群, 等. 气相色谱和原子荧光联用测定生物和沉积物样品中甲基汞 [J]. *光谱学与光谱分析*, 2006, 26: 336-339
- [4] Carrasco L, Diez S, Bayona J M. Simultaneous determination of methyl- and ethyl-mercury by solid-phase microextraction followed by gas chromatography atomic fluorescence detection [J]. *Journal of Chromatography A*, 2009, 1216(51): 8828-8834
- [5] Chung S W C, Chan B T P. A reliable method to determine methylmercury and ethylmercury simultaneously in foods by gas chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometry after enzymatic and acid digestion [J]. *Journal of Chromatography A*, 2011, 1218(9): 1260-1265
- [6] Liang L N, Jiang G B, Liu J F, et al. Speciation analysis of mercury in seafood by using high-performance liquid chromatography on-line coupled with cold-vapor atomic fluorescence spectrometry via a post column microwave digestion [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2003, 477(1): 131-137
- [7] Morton J, Carolan V A, Gardiner P H E. The speciation of inorganic and methylmercury in human hair by high-performance liquid chromatography coupled with inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2002, 17(4): 377-381
- [8] Yan X P, Yin X B, Jiang D Q, et al. Speciation of mercury by hydrostatically modified electroosmotic flow capillary electrophoresis coupled with volatile species generation atomic fluorescence spectrometry [J]. *Analytical Chemistry*, 2003, 75(7): 1726-1732
- [9] 钟震, 王文雄. 沉积物中汞的生物可利用性研究进展 [J]. *环境化学*, 2011, 30(1): 165-178
- [10] Lawrence A L, Mcaloon K M, Mason R P, et al. Intestinal solubilization of particle-associated organic and inorganic mercury as a measure of bioavailability to benthic invertebrates [J]. *Environmental Science & Technology*, 1999, 33(11): 1871-1876
- [11] Chen Z, Mayer L M, Quetel C, et al. High concentrations of complexed metals in the guts of deposit feeders [J]. *Limnology and Oceanography*, 2000, 45(6): 1358-1367
- [12] Turner A. Enzymatic mobilisation of trace metals from estuarine sediment [J]. *Marine Chemistry*, 2006, 98(2/4): 140-147
- [13] Gray J E, Plumlee G S, Morman S A, et al. *In vitro* studies evaluating leaching of mercury from mine waste calcine using simulated human body fluids [J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, 44(12): 4782-4788
- [14] 庞京团, 胡广林, 韩彬, 等. 复方芦荟胶囊配伍药物对朱砂中汞生物利用性影响的研究 [J]. *时珍国医国药*, 2009, (12): 3082-3083
- [15] Smith R G, Vorwald A J, Patil L S, et al. Effects of exposure to mercury in manufacture of chlorine [J]. *American Industrial Hygiene Association Journal*, 1970, 31(6): 687-700
- [16] United Nations Environment Programme. Global mercury assessment [R]. 2002
- [17] Harada M. Minamata disease-methylmercury poisoning in Japan caused by environmental-pollution [J]. *Critical Reviews in Toxicology*, 1995, 25(1): 1-24
- [18] 谭河清, 廖舰. 误服含甘汞中药致周围神经损害 1 例报告 [J]. *中国工业医学杂志*, 2003, (5): 288-289
- [19] 王艳, 杨素峰. 中药偏方致汞毒性脑病 1 例报告 [J]. *中国工业医学杂志*, 1997, (6): 19
- [20] 王悦, 苏丹颖, 石冬梅. 中药偏方致汞、铅、砷中毒 12 例临床误诊分析 [J]. *中国工业医学杂志*, 2001, (3): 151-152
- [21] Lu Y F, Yan J W, Wu Q, et al. Realgar- and cinnabar-containing An-Gong-Niu-Huang Wan (AGNH) is much less acutely toxic than sodium arsenite and mercuric chloride [J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2011, 189(1/2): 134-140

SPECIATION , BIOAVAILABILITY AND TOXICITY OF MERCURY IN TRADITIONAL CHINESE MEDICINE

ZHANG Yu¹ SHI Jianbo² HE Bin²

(1. Wangjing Hospital , China Academy of Chinese Medical Sciences , Beijing , 100102 , China; 2. State Key Laboratory of Environmental Chemistry and Ecotoxicology , Research Center for Eco-Environmental Sciences , Chinese Academy of Sciences , Beijing , 100085 , China)

ABSTRACT

As cardinal ingredient , mercury has been used in many traditional Chinese medicines for several thousands of years. However , the high concentration of mercury in these medicines has become the largest barrier in the export in recent years. Studies on mercury species and their toxic effects as well as bioavailabilities can help us to understand the relationship between species and effects better and provide strong evidence for setting limited standards of mercury in traditional Chinese medicines.

Keywords: mercury , traditional Chinese medicine , species , toxic effect , bioavailability.

《环境化学》推荐论文在 英国 *Journal of Environmental Monitoring (JEM)* 期刊刊登

经《环境化学》编辑部推荐 ,张爱茜研究员的《对羟基苯甲酸酯雌激素活性物种差异的理论研究》(环境化学 2011 , 30: 399-404) 和张士成和陈建民教授的《CS₂在 TiO₂表面的多相光化学反应研究》(环境化学 2011 , 30: 378-385) 已在英国 *Journal of Environmental Monitoring (JEM)* 2011 年 6 期刊登研究工作介绍(*J. Environ. Monit.* 2011 , 13: 1530-1531) .

为了进一步丰富期刊内容 ,更好地报道最新的研究成果 ,扩大对优秀创新项目的宣传和交流 ,今年 ,《环境化学》和英国 *Journal of Environmental Monitoring (JEM)* 期刊达成协议 ,相互推荐介绍对方发表的优秀论文. 本刊将不定期推出“通讯”专栏 ,专门刊登 *JEM* 推荐论文简介.

《环境化学》2011 年 6 期通讯栏目刊登了陶澍教授《青藏高原表土中的多环芳烃和有机氯农药污染》(*J. Environ. Monit.* , 2011 , 13: 175) 和朱永官研究员《京津污灌区蔬菜中多环芳烃的吸收途径及潜在风险研究》(*J. Environ. Monit.* , 2011 , 13: 433-439) 的研究工作介绍.

本刊讯