

編號：CCMP92-RD-044

# 硃砂單方及八寶散硃砂複方對幼鼠之 鎮靜安神及毒性研究

蕭水銀

國立台灣大學 醫學院藥理學研究所

## 摘 要

我們研究室有關硃砂及硫化汞的研究成果中，發現硃砂及硫化汞的神經毒性大小僅約為一般大家所熟知的劇毒—甲基汞的千分之一，比其他重金屬，如氯化銅，氯化鉛或氯化鎘的急性毒性小。同時對於市售傳統水飛硃砂之毒性及安全劑量的研究結果推估出成人使用水飛硃砂的安全劑量為0.05g~0.07g/day，連續重複使用最好不超過10-14天。然而我們這些研究成果是根據硃砂或硫化汞餵食成熟鼯鼠後，所測試之各項實驗所得結論。我們都知道中醫在臨床上常使用硃砂作為嬰幼兒的鎮靜安神劑，其中又以複方加味硃砂最常用。因此我們認為研究硃砂對於幼鼯鼠的神經藥理作用（鎮靜安神）及毒性反應，乃當前迫切急需闡明的重要課題！此外，中醫師對於硃砂的使用常以複方為主，鮮少以單方獨自使用，而硃砂與其他中藥合用下，硃砂的藥效是否有改變，也是值得我們去詳加探討的問題。所以我們擬於本計畫研究及探求單方及複方硃砂對於幼鼯鼠所產生的神經藥理作用及毒性反應，以便瞭解單方與複方硃砂所產生的作用反應有何異同？同時也能進一步瞭解硃砂在成鼠及幼鼯鼠中所造成的鎮靜安神及毒性作用的差異性。因此，我們在本研究計畫中的研究重點是：(1) 探求市售傳統水飛硃砂（0.01g/kg），在幼鼯鼠體內的吸收、鎮靜安神、神經毒性的劑量及效應關係，並探討硃砂對幼鼠及成鼠作用的差異性。(2) 複方硃砂在幼鼯鼠體內的吸收、鎮靜安神及神經毒性的劑量及效應關係，與單獨硃砂的劑量—效應關係之差異性作比較研究。餵食幼鼯鼠複方硃砂（硃砂劑量減為0.004g/kg）及對照組，在餵食一星期、二星期或更久—十一星期（依照產生的藥理及毒理作用再作決定），分析

對幼鼯鼠所產生鎮靜安神的效用（活動力、安靜不活動期、跳躍次數，及對 pentobarbital 睡眠期延長效率）及產生毒性（耳毒性—聽力誘發腦幹訊息傳遞機制，旋轉輪平衡運動效率，血液及腦組織 NO 含量，腦組織  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  活性的改變）。

本研究成果歸納如下：（1）幼鼯鼠餵食硃砂低劑量 4mg/Kg 鎮靜安神的效果不亞於 10mg/Kg，因此幼鼠對硃砂的反應顯然比成鼠敏感且藥效確實。（2）使用低劑量硃砂（4mg/Kg）6-7 星期神經毒性（耳毒性及運動平衡能力）均不明顯，因此低劑量硃砂（4mg/Kg）對幼鼠鎮靜安神作用明顯，而且連續使用一個半月尚在安全期限內。（3）複方硃砂之鎮靜安神效果及神經毒性，均趨向緩和的效應。最明顯的良好效應是在單方硃砂在餵食 11 星期後，運動均失調，但複方硃砂尚無此毒性作用產生。（4）單方硃砂明顯增加血液中及小腦組織  $\text{NO}_x$  含量，而複方硃砂則明顯緩和此  $\text{NO}_x$  增加之作用。（5）複方硃砂選擇性的增加小腦  $\text{NO}_x$  含量，不影響血中  $\text{NO}_x$  含量，顯示其對腦組織作用的特異性。（6）最重要的是單方硃砂明顯抑制腦組織中  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  活性，而複方硃砂也使  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  活性抑制作用較小。總之，本研究結果顯示硃砂對幼鼠鎮靜安神之效果比對成鼠良好，更低劑量（4mg/Kg）就有效，也因此安全使用期限也由 14 天增至 45 天左右。而複方硃砂之鎮靜安神效果較緩和，但神經毒性明顯下降。

關鍵詞：幼鼯鼠、單方硃砂、八寶散硃砂複方、鎮靜安神、神經毒性反應

Number:CCMP92-RD-044

# **Studies of Sedative and Toxic Effects of the Single and Compounded Cinnabar in Young Mice**

Lin-Shiau S.Y.

Institute of Pharmacology, College of Medicine, National Taiwan University

## **ABSTRACT**

In our previous experiments, we have demonstrated that cinnabar and HgS exhibited neurotoxic effect in guinea-pigs, rats and mice to be ranged at one thousandth of those of methylmercury. This finding indicates the fact that the toxic effects of cinnabar and HgS are less than those of CuCl<sub>2</sub> and CdCl<sub>2</sub>. In order to estimate the approximate safe range of dosage of cinnabar, we have performed the experiments in assessing the dosage regimen in inducing sedative effects and neurotoxic effects respectively. The results obtained lead us to estimate the safe dosage regimen to be in the range of 0.05-0.07g/day, once everyday for 10-14 days. However, this estimation is based on the restricted conditions performed in the adult mice. One important question regarding the pharmacological effects of cinnabar in the infants or neonatal mice is still awaited to be elucidated. Therefore, We attempted in this research project to investigate the sedative and neurotoxic effects of cinnabar in younger mice immediately after discontinuous mother feeding (21 days postneonatal) . In addition, we will study the efficacy of compounded cinnabar as compared with the single cinnabar, since it is clinically to prescribe cinnabar in compound formulation.

The results obtained in this study include : ( 1 ) The sedative effects of a lower dose ( 4mg/Kg ) of cinnabar to the young mice were superior to 10mg/Kg in adult

mice. Apparently the response of young mice to cinnabar is much better than that of adult mice. (2) At this lower dose of 4mg/Kg of cinnabar, the neurotoxic effects including hearing defect and imbalanced motor performance were not exhibited with prolonged feeding for more than 45 days. (3) The pharmacological and neurotoxic effects of compounded cinnabar tends to become moderately. The most prominent beneficial effects of compounded cinnabar is that the imbalanced motor performance which usually appeared after 10-11wks-feeding of cinnabar alone was not yet induced in the mice fed with compounded cinnabar. (4)  $\text{NO}_x$  contents of the blood and cerebellar cortex were significantly increased by singled cinnabar but were much less by compounded cinnabar. (5) The selective increase of cerebellar  $\text{NO}_x$  contents by compounded cinnabar suggests its specific effect on CNS. (6) The most important event found in the brain is that  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATPase activity is inhibited with less extent by compounded cinnabar. All of these findings suggest that the younger mice are definitely more responsive to the sedative effects of cinnabar which allow to use a lower dose of cinnabar with a better therapeutic index, and the compounded cinnabar possesses a moderate sedative effect associated with less neurotoxic effect. These results provide the useful information that the lower effective compounded cinnabar used in the young mice markedly enhanced the therapeutic index of cinnabar.

Keywords : Compounded cinnabar, toxicity, young mice

## 壹、前言：

硃砂乃是一種礦物性中藥，其成分乃硫化汞（HgS）。在許多的中醫藥古籍中均指出：中醫臨床治療精神障礙之藥物—硃砂作為使藥，屬於重鎮寧神類型之常用藥，其乃因硃砂有清心寧神之功，對多種原因引起的心悸怔忡，均有治療作用。而一些古籍也提到：丹砂（硃砂）祇能暫時應用，不可經久進服、獨用、多用，令人呆悶。現代藥理及毒理學研究報告已指出，硃砂具有降低大腦中樞神經興奮性，而達到安撫催眠作用。不過由於含大量的 HgS、PbO 等重金屬化合物，故大劑量下或長期低劑量的服用之下會有中毒之危險。然而對於服用時間的長短及使用劑量方面之安全性及毒性，尚待更進一步的科學方法來探討及界定。

從我們已完成的實驗結果發現：(1) cinnabar 及 HgS 在短期（1 或 2 週）餵食（p.o）大劑量(1.0g/Kg)的情況下，均能有效的增強 pentobarbital 之催眠作用，而 pentobarbital 之耐藥性可為 cinnabar 及 HgS 所防止；同時也發現對於鼯鼠（Mice）耳聽力—Auditory brain stem response(ABR)也有影響。(2) 對於低劑量使用市售水飛硃砂的研究結果也發現:在給予低劑量（0.01g/Kg）餵食（p.o）市售水飛硃砂約 3 週後，會抑制鼯鼠自發性運動量、會增強 pentobarbital 之催眠作用、會影響血液及組織中一氧化氮量（NO levels）的表現情形以及影響鼯鼠（Mice）耳聽力—Auditory brain stem response（ABR），因此我們依據動物實驗中使用水飛硃砂神經毒性尚未產生的安全期限推估：成人使用市售水飛硃砂的安全劑量 0.05g~0.07g/day，重複使用最好不超過 10-14 天。

然而此估計只是根據所測試的神經毒性之相關實驗所得的結果，因此對於硃砂的安全劑量、使用期限及神經毒性作用等相關問題仍須有待我們更進一步深入的去研究探討，尤其中醫在臨床常使用硃砂作為嬰幼兒的鎮靜安神用藥，因此探討硃砂對於幼鼯鼠的神經藥理及毒性作用乃當前急需探求的重點。

因此本計畫的主要目的是探求單方硃砂及複方硃砂在低劑量（0.01g/Kg）長期（>30 天）口服餵食幼鼯鼠（3 週大）後，測量對幼鼯鼠所產生的鎮靜安神及神經毒性的劑量及效應關係，並探討硃砂對幼鼠及成鼠作用的差異性，並由所得結果推估安全劑量及安全期限。

## 貳、材料與方法：

### 一、小白鼠實驗：

我們採用剛離乳  $12\pm 2\text{g}$  (約 3 週大) ICR 種幼鼯鼠，分別供以下的實驗使用。且每籠放置 5~6 隻，動物室中具有中央空調系統及照明設備，將室溫維持於攝氏  $22\pm 1.5^\circ\text{C}$ ，濕度則維持在 40~60%，人工照明設備以 12 小時為單位進行日夜變化。每星期秤體重一次。

(一) 材料：市售水飛硃砂樣品 (Cinnabar-D) 及四寶散 (組成為：熊膽、甘草、珍珠粉、牛黃)。

(二) 方法：

1. 幼鼯鼠 (ICR) 3 週大，以胃管分別餵食硃砂單方 (0.004g、0.01g/Kg)、四寶散 (13.6mg/Kg) 及複方硃砂 (四寶散-17.6mg/Kg; 硃砂劑量為 4mg/Kg)，每日一次，長達 10-12 週，並於每七天測量鼯鼠體重之變化情形。

2. 對鼯鼠自發運動量之影響：

運動量之測定是使用「動物運動量測定裝置」(TruScan photobeam Tracking)，記錄幼鼯鼠經口服給予餵食硃砂單方 (0.004g、0.01g/Kg)、四寶散 (13.6mg/Kg) 及複方硃砂後之各種活動行為的變化。口服給予餵食單方硃砂及複方硃砂後，每隔七天後將動物放入裝置內適應 5 分鐘，再開始記錄，觀察並連續記錄 30 分鐘。(每隔 30 分鐘記錄一次 ambulatory distance、rest time、V-plane episode、jumps、stereotypic episodes 等)。實驗時間為上午九時至下午五時，對照組均給予蒸餾水。

3. 對鼯鼠滾輪式運動能力 (Rota-rod motor performance) 之影響：

滾輪式運動能力的測試是使用「動物滾輪式運動力測定裝置」(TruScan, Rota-rod Tracking)。此裝置是用來記錄在鼯鼠經口服給予餵食藥物後，評估藥物對於小腦及橋腦...等有關調控平衡能力器官的影響。在口服給予餵食藥物，每給予藥物 7 天後將動物放到裝置上，以 60 rpms/min 之速度，紀錄鼯鼠運動的時間(需重複記錄 2 次)及觀察鼯鼠在滾輪上運動的情形。實驗時間為上午 9 時至下午 5 時，對照組均給予蒸餾水。

4. 對 pentobarbital 誘發睡眠時間之影響：

ICR 幼鼯鼠以口服給予餵食硃砂單方(0.004g、0.01g/Kg)、四寶散(13.6mg/Kg)及複方硃砂後，每給予藥物14天後腹腔注射 pentobarbital (50mg/kg)，誘發睡眠。觀察並記錄從注射 pentobarbital 後小鼠直立反射(righting reflex)消失之時間(onset)到從直立反射消失至恢復之時間(sleeping time, duration)。對照組給予蒸餾水。

5. 對鼯鼠聽力腦幹神經訊息傳遞系統(Auditory brainstem response, ABR)之影響：

鼯鼠聽力腦幹神經訊息傳遞系統(Auditory brainstem response, ABR)的偵測是使用「聽覺引發動作電位系統」(An auditory evoked potential system, Nicolet, Spirit, Madison, WI, USA)。此系統是用來偵測及記錄腦幹(brainstem)對於不同分貝(dB)的聲音所引起聽力腦幹神經訊息傳遞反應的情形，包含：聽力閾值(hearing thresholds)及聽覺神經訊息傳遞時間(the absolute latencies and the absolute interwave latencies of ABR waveforms)的反應。口服給予餵食硃砂單方(0.004g、0.01g/Kg)、四寶散(13.6mg/Kg)及複方硃砂，在予給藥物後第4、6及10週後，將鼯鼠給予腹腔注射 pentobarbital (50mg/kg)麻醉，利用此裝置測量藥物對於鼯鼠聽力腦幹神經訊息傳遞系統改變的情形，藉此來評估硃砂所產生的耳毒性。實驗時間為上午9時至下午5時，對照組均給予蒸餾水。

6. 一氧化氮變化測定：

(1) 血中 NO 之濃度：每給予藥物7天後，取鼯鼠眼窩靜脈血75ul加95%酒精75ul(1:1)，混合均勻後，置入4°C冰箱約12-16小時去蛋白質。取出樣品，以12000rpm速度離心，取上清液10ul，注入一氧化氮分析儀(NO<sub>A</sub>-280)，在VCl<sub>3</sub>還原作用下，將NO<sub>2</sub><sup>-</sup>及NO<sub>3</sub><sup>-</sup>還原成NO<sup>-</sup>而與O<sub>3</sub>反應成活化態NO<sub>2</sub><sup>\*</sup>，以化學發光感測器偵測NO<sub>2</sub><sup>\*</sup>的濃度。

(2) 腦組織中 NO 之濃度：將鼯鼠犧牲後，取各組織(大腦、sucrose(PH-7.4)後利用均質機將樣品均質化後，取100ul加入0.4N過氧酸(PCA)100ul(1:1)，混合均勻後，置入4°C冰箱約12-16小時去蛋白質。取出樣品，以12000rpm速度離心，取上清液10ul，注入一氧化氮分析儀(NO<sub>A</sub>-280)，在VCl<sub>3</sub>

還原作用下，將  $\text{NO}_2^-$  及  $\text{NO}_3^-$  還原成  $\text{NO}^-$  而與  $\text{O}_3$  反應成活化態  $\text{NO}_2^*$ ，以化學發光感測器偵測  $\text{NO}_2^*$  的濃度。

#### 7. 組織 $\text{Na}^+\text{K}^+$ -ATPase 測定：

依據 Lanzatta (1985) 等人之發表的方法測定。以 ATP 為 substrate，測反應後磷酸 ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) 產生的量。以 Malachite green (0.045%)，4.5% Ammonium Molybdate 做為  $\text{PO}_4^{3-}$  的呈色劑，用 34% sodium citrate 來終止 ATPase 的反應，使用 spectrophotometer 測 630nm 的吸光值。用 ouabain (1mM) 抑制  $\text{Na}^+\text{K}^+$ -ATPase activity，因此測得  $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase，另一組沒加 Ouabain 所得的值為 Total  $\text{Na}^+\text{K}^+$ - $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase，二者相減即為  $\text{Na}^+\text{K}^+$ -ATPase activity，以尋求給予鼯鼠餵食藥物後對於組織  $\text{Na}^+\text{K}^+$ -ATPase 活性所造成之影響。

#### 8. 實驗數據之統計：

實驗數據以平均值±標準偏差 (Mean±S.E.) 表示，而每組實驗動物數目皆大於 7 ( $n>7$ )。實驗組別相互間之差異以 ANOVA followed by Dunnett 加以評估， $P<0.05$  者表示具統計學上的差異。



## 參、結果與討論：

### 一、對自發性運動量之影響：

#### (一) Ambulatory distance (AD, 圖一、二-A)：

在餵食 0.01g/Kg 硃砂單方 4 週時，有明顯降低 Ambulatory distance (AD) 值，且此作用一直持續到 12 週後仍有效 (圖一-A)。而餵食單方硃砂-0.004g/Kg 則是一開始 (第 7 天) 就有顯著的抑制 Ambulatory distance (AD) 值，此作用在第 7 週後便消失 (圖二-A)。不含硃砂之四寶散雖一開始有些微的抑制 Ambulatory distance (AD) 值，但之後便回復到正常值，一直要到餵食 9 週以後才有明顯的抑制作用。而複方硃砂則是在餵食 8-9 週後對於 Ambulatory distance (AD) 值才有較明顯的抑制作用。

#### (二) Rest time (圖一、二-B)：

餵食 0.01g/Kg 硃砂單方 4 週時對於 Rest time 就有些微的增加，而在第五週以後則是有顯著的上升，且此效果一直持續到最後 (圖一-B)。複方硃砂在餵食 7-8 週時，對於 Rest time 值才有顯著的增加，四寶散本身則是在 8-9 週後才增加，而餵食單方硃砂-0.004g/Kg 雖然一開始有增加，但是此作用在餵食第五週後則消失 (圖二-B)。

#### (三) Jump (圖一、二-C)：

對 Jump 之抑制以複方硃砂最強，不但在第 3 週就產生，而且隨著時間而成正比的抑制，單方硃砂-0.004g/Kg 雖然在初期 (第 3-6 週) 有抑制作用，可是在第 7 週以後此作用就消失。四寶散則是在 8-9 週後抑制作用才出現 (圖二-C)，而餵食 0.01g/Kg 硃砂單方對於則 Jump 則是無明顯的作用 (圖一-C)。

#### (四) Stereotype episodes (SE, 圖一、二-D)：

餵食 0.01g/Kg 硃砂單方 1 個月左有，沒有抑制作用，除非延長至 6 週以後才明顯抑制 SE，且此作用一直持續到最後 (圖一-D)。餵食單方硃砂-0.004g/Kg 在早期 (第 2 週) 時則出現增加 Stereotype episodes 的作用，並且持續到最後。而四寶散及複方硃砂對於則是無顯著的作用 (圖二-D)。

#### (五) V-plane episode (VPE, 圖一、二-E):

對 VPE 之抑制作用，仍是以餵食 0.01g/Kg 硃砂單方最強，在餵食 3 週後，抑制作用便顯著的出現並且隨時間而增大 (圖一-E)。單方硃砂-0.004g/Kg 雖然在餵食第 4-6 週間對於 VPE 有抑制的效果，然而在第 7 週以後此作用便消失，又回復到正常的範圍。而四寶散及複方硃砂對於 VPE 則並沒有顯著的影響 (圖二-E)。

### 二、體重之變化：

對於幼鼯鼠在 3 週大開始餵食藥物，其體重增加之曲線從第 1 週至 5 週之間，給藥物組與控制組沒有意義的差異。但在餵食第 6 週以後，雖然給藥物組體重增加的程度似乎較控制組低，但是統計上並沒有明顯差異 (圖三-A、B)。

### 三、對 pentobarbital 誘發睡眠時間之影響：

餵食 0.01g/Kg 硃砂單方 2 週開始明顯增加 pentobarbital 誘發 Sleeping time，此作用一直持續增加到最後 (餵食第 10 週以後)。而餵食硃砂單方 (0.004g/Kg)、四寶散及複方硃砂則是在第 4 週以後才開始明顯增加，而餵食四寶散及複方硃砂組在第 8 週時對於延長 pentobarbital 誘發睡眠時間的作用並不明顯，但第 10 週之後，則又有明顯的作用 (圖四-A、B)。此外，我們也發現在第 10 週時餵食較低劑量的硃砂單方 (0.004g/Kg) 其對於增加 pentobarbital 誘發 Sleeping time 的作用比較高劑量的硃砂單方-0.01g/Kg 的作用較強一些 (0.004g/Kg 組：0.01g/Kg 組=2.19：1.77)。

### 四、對於幼鼯鼠聽力腦幹神經訊息傳遞系統 (Auditory brainstem response, ABR) 之影響：

餵食 0.01g / Kg 硃砂單方在第 4-5 週時對於聽力閾值 (hearing threshold) 並沒有影響，仍維持正常，與對照組無統計意義之差異性，但是延長餵食至第十週以後就有聽力毒性出現，明顯增加聽力閾值。而餵食硃砂單方 (0.004g/Kg) 及複方硃砂的結果也與餵食 0.01g/Kg 硃砂單方相似，都是在延長餵食至第十週以後就有耳毒性出現，明顯增加聽力閾值 (圖五-A、B)。

## 五、對於滾輪式運動能力( Rota-rod motor performance )之影響：

滾輪式運動能力的測試是用來記錄在鼯鼠經口服給予餵食藥物後，評估藥物對於小腦及橋腦...等有關調控平衡能力器官的影響。由圖六—A、B 的結果發現在餵食 0.01g/Kg 硃砂單方 5-6 週以後才開始出現有些平衡失調現象，而且隨著餵食時間的增加平衡失調的程度也越嚴重。而餵食 0.004g/Kg 硃砂單方的結果也與餵食 0.01g/Kg 硃砂單方相似。然而餵食複方硃砂這一組直到實驗結束，並沒有出現明顯的平衡失調的現象，這是目前所發現的複方硃砂最大的優點（圖六—B）。

## 六、對於血液及組織中一氧化氮（NO）之含量：

（一）由於 NO 在腦中扮演神經訊息傳遞的重要功能，因此監測硃砂對血中 NO 含量的變化，將可提供我們重要的相關訊息。由實驗的結果發現：以 0.01g/Kg 硃砂單方餵食幼鼯鼠，在第 5-6 週時血液中一氧化氮（NO）含量開始上升，在餵食第 7 週以後則有顯著的增加，且隨著餵食時間的延長，血液中一氧化氮（NO）含量也有上升的情形（圖七—A）。而在圖七-B 中的結果發現：鼯鼠在餵食四寶散 4-6 週時血液中 NO 的含量有顯著的上升，但是在第 5 週以後又回復到正常範圍。而在餵食 0.004g/Kg 硃砂單方的結果發現在餵食第 3 週後血液中 NO 的含量有顯著的上升，但是在第 8-9 週時降至正常範圍，隨後又有顯著的上升。最重要的發現是複方硃砂持續餵食九週對於鼯鼠血液中一氧化氮（NO）的含量並不會有顯著的影響，再延長至 10-11 週，才明顯上身。

（二）對於組織中 NO 含量的變化情形發現：餵食 0.004g/Kg、0.01g/Kg 硃砂單方、四寶散及複方硃砂組均會降低大腦皮質 NO 的含量，尤其以 0.004g/Kg、0.01g/Kg 硃砂單方及含複方硃砂組較為顯著。在小腦皮質中反而是有增加的結果，給予 0.004g/Kg、0.01g/Kg 硃砂單、四寶散及複方硃砂組均會增加 NO 的含量（圖八—A、B）。

## 七、對於組織 $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase 活性之影響：

許多的研究報告指出  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase 活性與神經訊息及腦部功能有密切關係，所以監測硃砂對於腦組織  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase 活性的影響，

將可提供我們對於探求硃砂可能的藥效及毒性作用機轉的另一項重要訊息。由實驗結果發現：在長期餵食鼯鼠低劑量（0.04g/Kg、0.01g/Kg）硃砂單方，均會顯著的抑制大腦及小腦皮質  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase 活性，但複方硃砂抑制的程度較小，而四寶散則不會有抑制作用（圖九—A、B）。

## 肆、結論與建議：

綜合以上的實驗結果，我們獲得的結論及建議如下：

- 一、給予幼鼯鼠餵食低劑量（0.01g/Kg）的水飛硃砂，在第 4 週以後出現明顯的鎮靜安神作用（降低自發性運動量、延長 pentobarbital 誘發睡眠時間），在延長餵食 8 週以後才出現毒性作用（明顯增加聽力閾值、平衡失調現象的出現），進一步分析發現血液中 NO 的含量在第 5-6 週以後會逐漸增加，並顯著抑制大腦皮質 NO 但增加小腦皮質 NO 之含量，另外也發現大、小腦組織中  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase 活性有明顯抑制作用。
- 二、幼鼠對硃砂鎮靜安神的作用比成鼠敏感，而切效果穩定顯著，因此幼鼠使用更低劑量 0.004kg/Kg 已有顯著效果，且毒性變小，安全期限增加，Therapeutic index 明顯增加，這一發現提供我國傳統主要在使用硃砂，使嬰兒鎮靜安神的證據。
- 三、硃砂複方鎮靜安神之作用似乎比單方硃砂更具腦組織選擇性的作用，鎮靜安神似乎比較緩和，最重要的是硃砂單方的毒性可以明顯降低，這一發現也提供我國傳統使用硃砂的理由。

## 建議：

我們非常感激中醫藥委員會的長期資助此研究，我們得以探求我國傳統使用的硃砂複方的優點，我們比較遺憾的是沒有經費繼續研究單方及複方硃砂對於肝臟及腎臟的藥理作用與毒性（硃砂聚集最多的組織器官）是否也有與以上腦組織類似的結果？我們期盼審查委員能夠特別推薦再給我們一年的資助，以完成以上重要的研究！

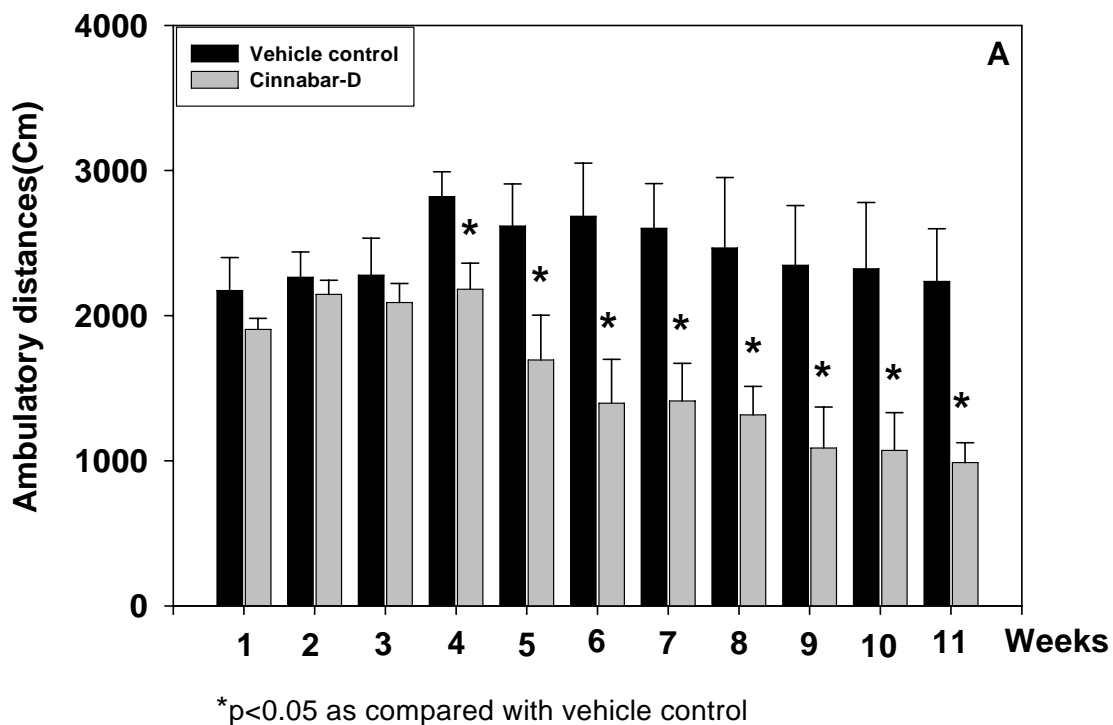
## 誌謝

本研究計畫承蒙行政院衛生署中醫藥委員會，計畫編號 CCMP92-RD-044 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

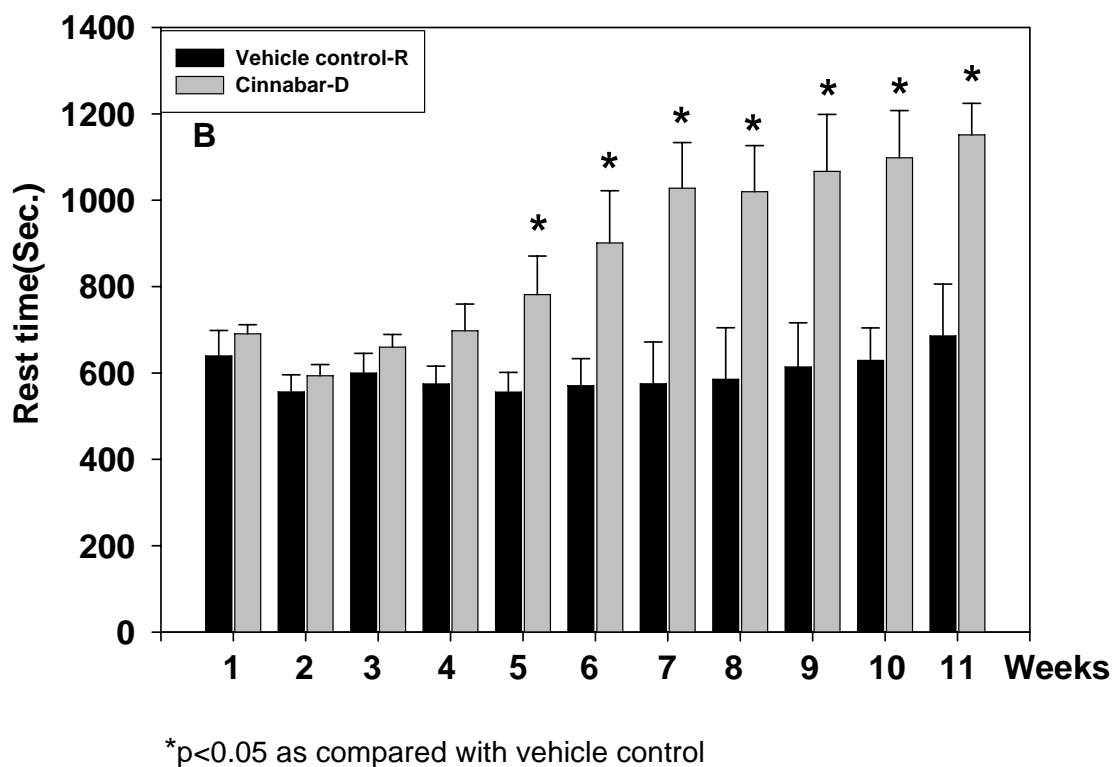
## 伍、參考文獻：

1. 唐·蘇敬等，新修本草，聯群出版社，1955。
2. 明·李時珍，本草綱目，人民衛生出版社，1957。
3. 中藥毒理學，第一、二章 中藥毒理學史，啟業書局，台北，1989。
4. 賴振榕（1990）從「八寶散」談硃砂的安全性，學前教育，23:8,p32-33。
5. 曾信雄（1996）礦物性中藥—硃砂之亞慢性毒性評估，行政院衛生署中醫藥年報 12:3,373-436。
6. 張揚全（1993）汞暴露對人體神經系統之危害，行政院國科會專題研究計畫成果報告。
7. 江昭敏（1998）認識食品中有害之重金屬，食品資訊 154:40-43。
8. Jiunn-Jye Chuu, Yi-Ho Young, Shing-Hwa Liu, Shoei-Yn Lin-Shiau. Neurotoxicity of mercury sulfide in the vestibular ocular reflex system of guinea-pigs. *Naunyn-Schmiedebergs Archives of Pharmacology*. 2001,364, 249-258, 2001.
9. Jiunn-Jye Chuu, Shing-Hwa Liu, Shoei-Yn Lin-Shiau. Effects of methyl mercury, mercuric sulfide and cinnabar on active avoidance responses, Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase activities and tissue mercury contents in rats. *Preceedings of the National Science Council*. 25,128-136, 2001.
10. Jiunn-Jye Chuu, Chuan-Jen Hsu, Shoei-Yn Lin-Shiau. Abnormal auditory brainstem responses in mice treated with mercurial compounds: Involvement of excessive nitric oxide. *Toxicology*. 162,11-22,2001.
11. Yi-Ho Young, Jiunn-Jye Chuu, Shing-Hwa Liu, Shoei-Yn Lin-Shiau. Neurotoxicological mechanism of cinnabar and mercuric sulfide on vestibular-ocular reflex system in guinea-pigs. *Toxicol.Sci*. 67,256-263, 2001.
12. Yen,C.C., Liu,S.H., Chen,W.K., Lin,R.H., and Lin-Shiau,S.Y.:Tissue distribution of different mercurial compounds analyzed by the improved FI-CVAAS. *J.Anal.Toxicol.*:Aug. 2002.
13. Sin, Y.M., The WF, Wong MK Absorption of mercuric chloride and mercuric sulphide and their possible effects on tissue glutathione in mice, *Bull. Environ. Contam.Toxicol*. 42: 307-314, 1989.
14. Sin, Y.M., The, W.F., and Wong, M.K. Absorption of mercuric chloride and mercuric sulphide and their possible effects on tissue glutathione in mice, *Bull.Environ.Contam.Toxicol*. 42, 307-314, 1990.
15. Yeoh, T.S., Lee, A.S. and Lee, H.S. Absorption of mercuric sulphide following oral administration in mice. *Toxicology*. 41, 107-11,1986.

16. Yoshida M. Watanabe C. Satoh H. Kishimoto T. Yamamura Y. Milk transfer and tissue uptake of mercury in suckling offspring after exposure of lactating maternal guinea pigs to inorganic or methylmercury. *Arch Toxicol.* 68: 174-8, 1994.
17. Shinyashiki, M.; Kumagai, Y.; Nakajima, H.; Nagafune, J.; Homma Takeda, S.; Sagai, M.; Shimojo, N.: Differential changes in rat brain nitric oxide synthase in vivo and in vitro by methylmercury. *Brain Res.* 798: 147-55, 1998.
18. Wassick KH, Yonovitz A. Methyl mercury ototoxicity in mice determined by auditory brainstem responses. *Acta Oto Laryngol.* 99: 35-45, 1989.
19. Liu SH. Lin-Shiau SY. Studies on mercury-induced myotonia in the mouse diaphragm. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie.* 319,86-100, 1992.
20. Balestrino M. Young J. Aitken P. Block of  $(\text{Na}^+/\text{K}^+)\text{ATPase}$  with ouabain induces spreading depression-like depolarization in hippocampal slices. *Brain Res.* 838: 37-44, 1999.
21. Liang, M. and Knox, F.G. Nitric oxide activates PKC $\alpha$  and inhibits  $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{-ATPase}$  in opossum kidney cells. *Am J Physiol.* 277: F859- 65, 1999.
22. Bolanos, J.P.; Almeida, A.: Roles of nitric oxide in brain hypoxia- ischemia. *Biochim Biophys Acta.* 1411: 415-36, 1999.

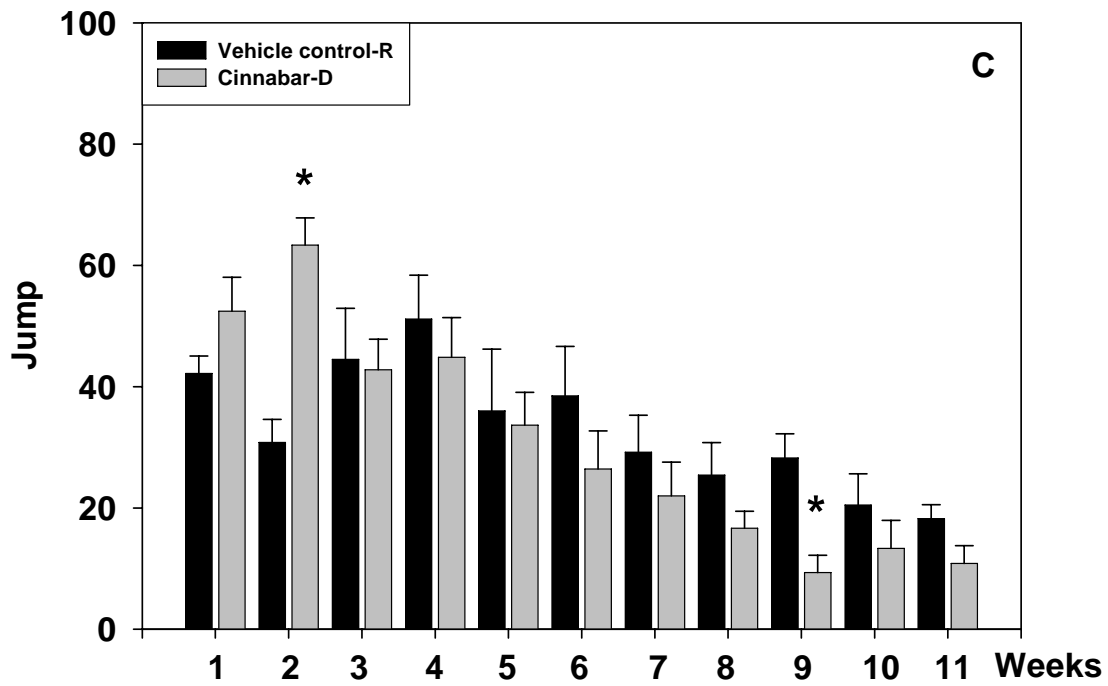


(圖一 A) 自發性運動量之影響：Ambulatory distances



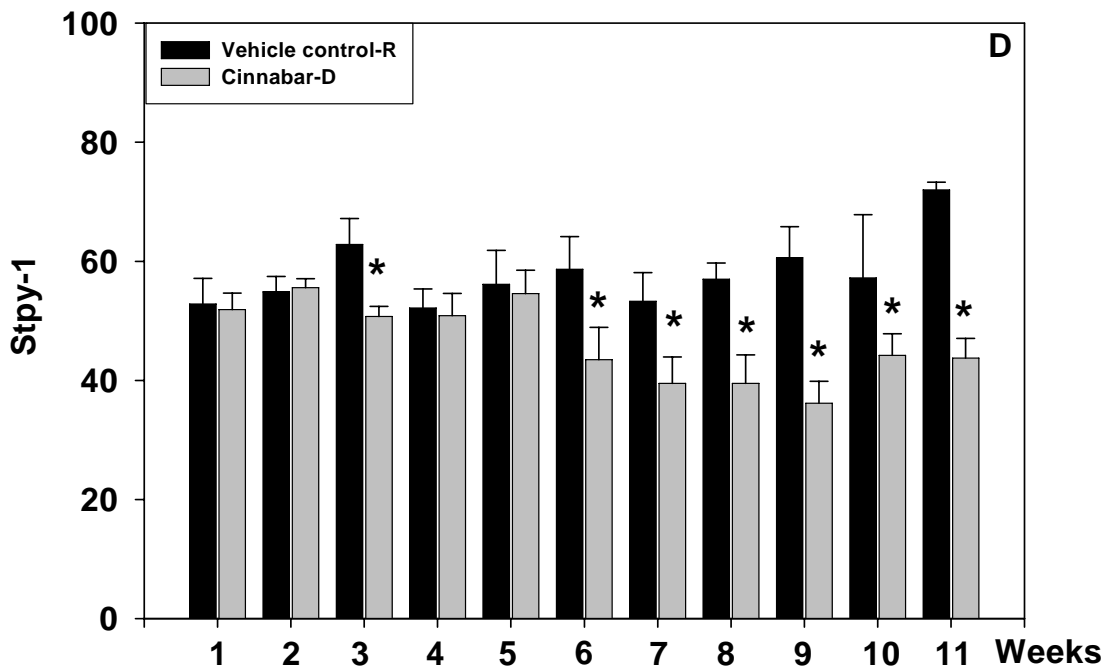
(圖一 B) 自發性運動量之影響：Rest time





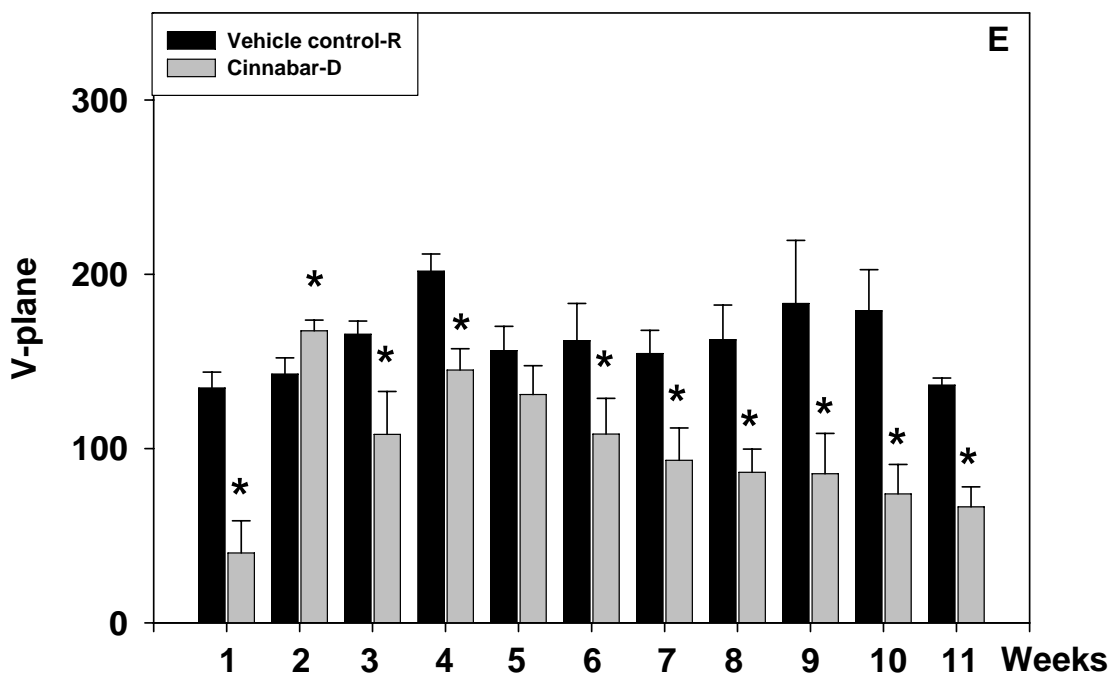
\*p<0.05 as compared with vehicle control

(圖一 C) 自發性運動量之影響：Jump



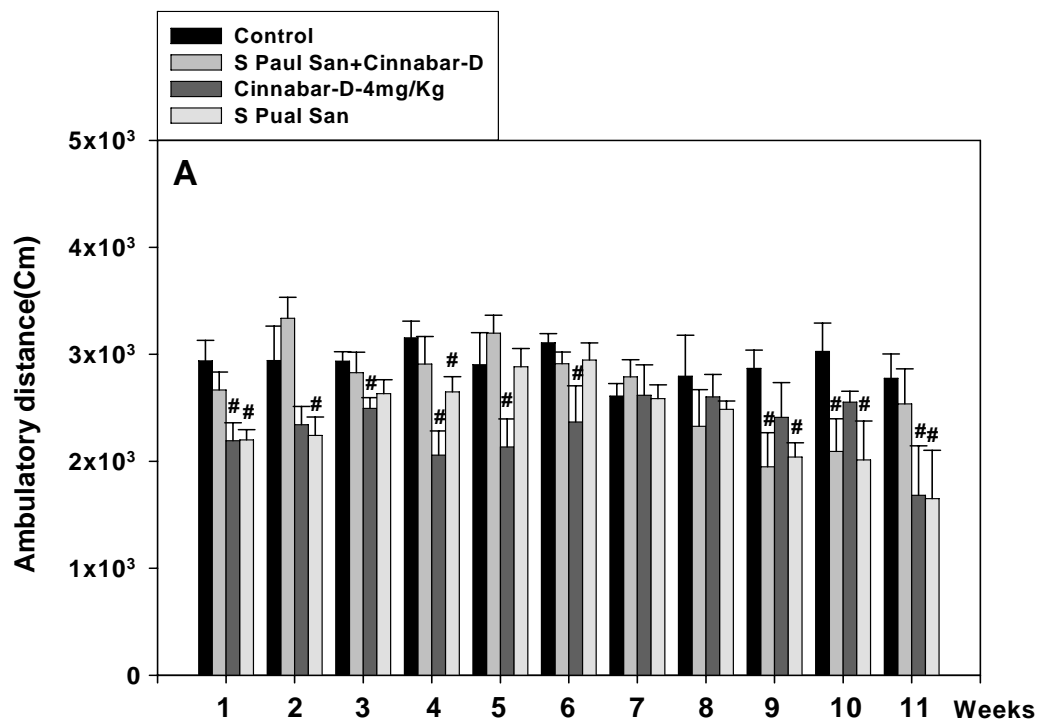
\*p<0.05 as compared with vehicle control

(圖一 D) 自發性運動量之影響：Stpy-1 Episodes



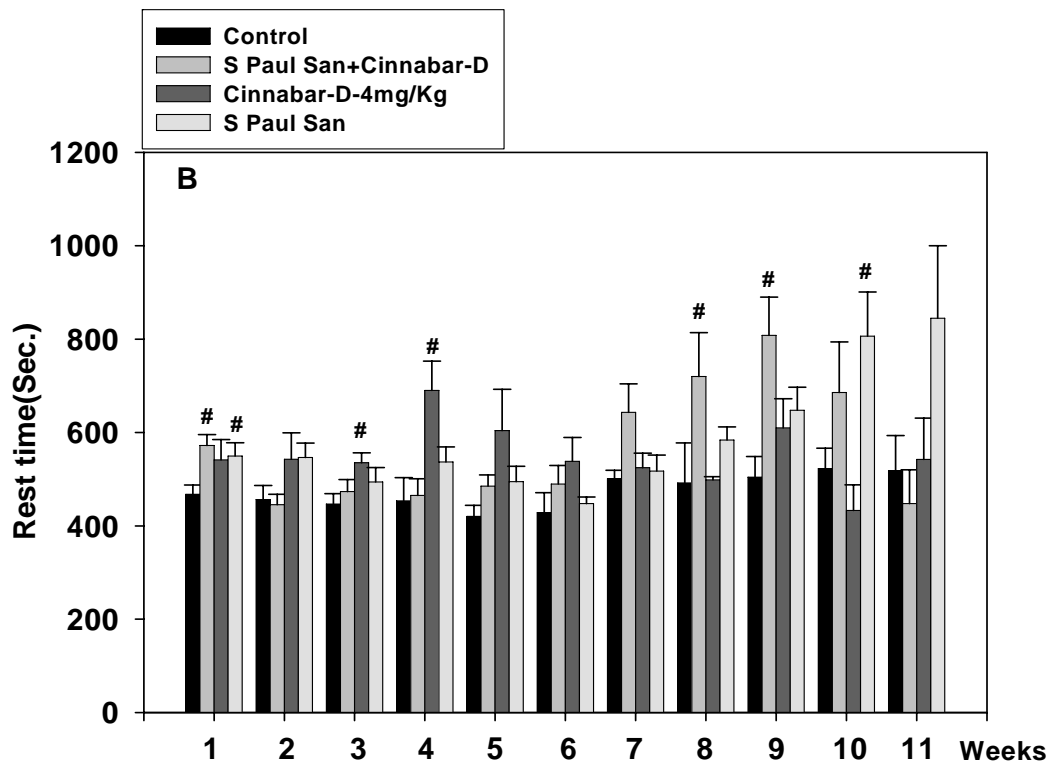
\*p<0.05 as compared with vehicle control

(圖一 E) 自發性運動量之影響：V-plane Entries



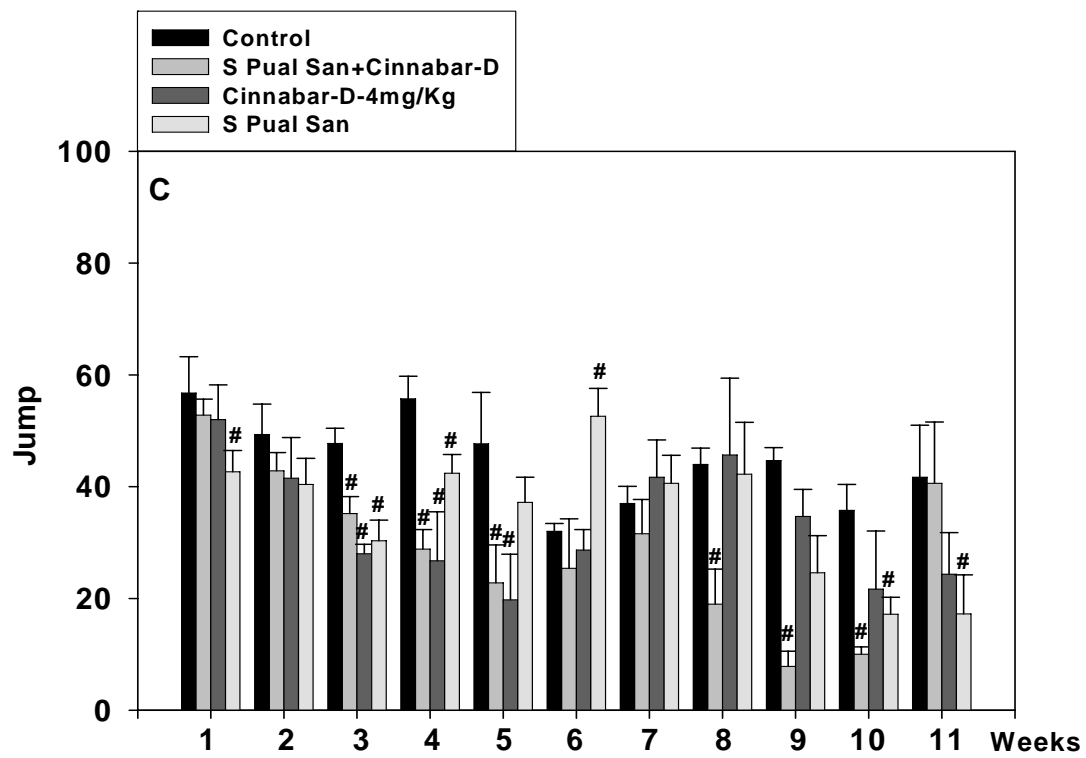
#:p<0.05 as compared with vehicle control.

(圖二 A) 自發性運動量之影響：Ambulatory distances



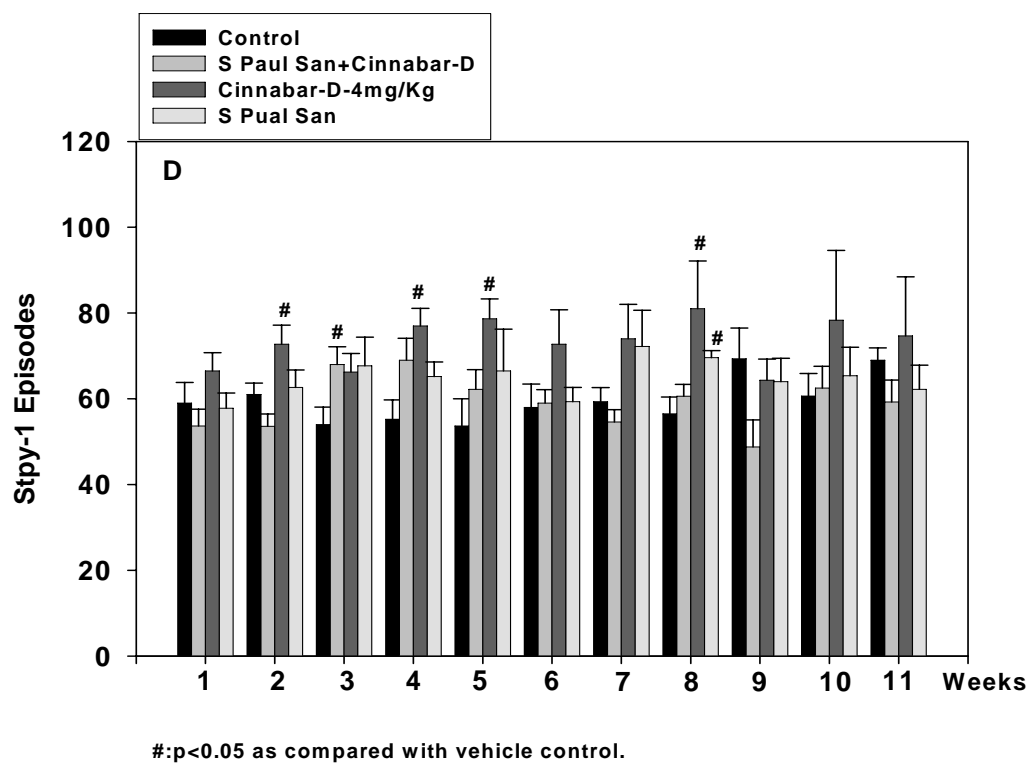
#:p<0.05 as compared with vehicle control.

(圖二 B) 自發性運動量之影響：Rest time

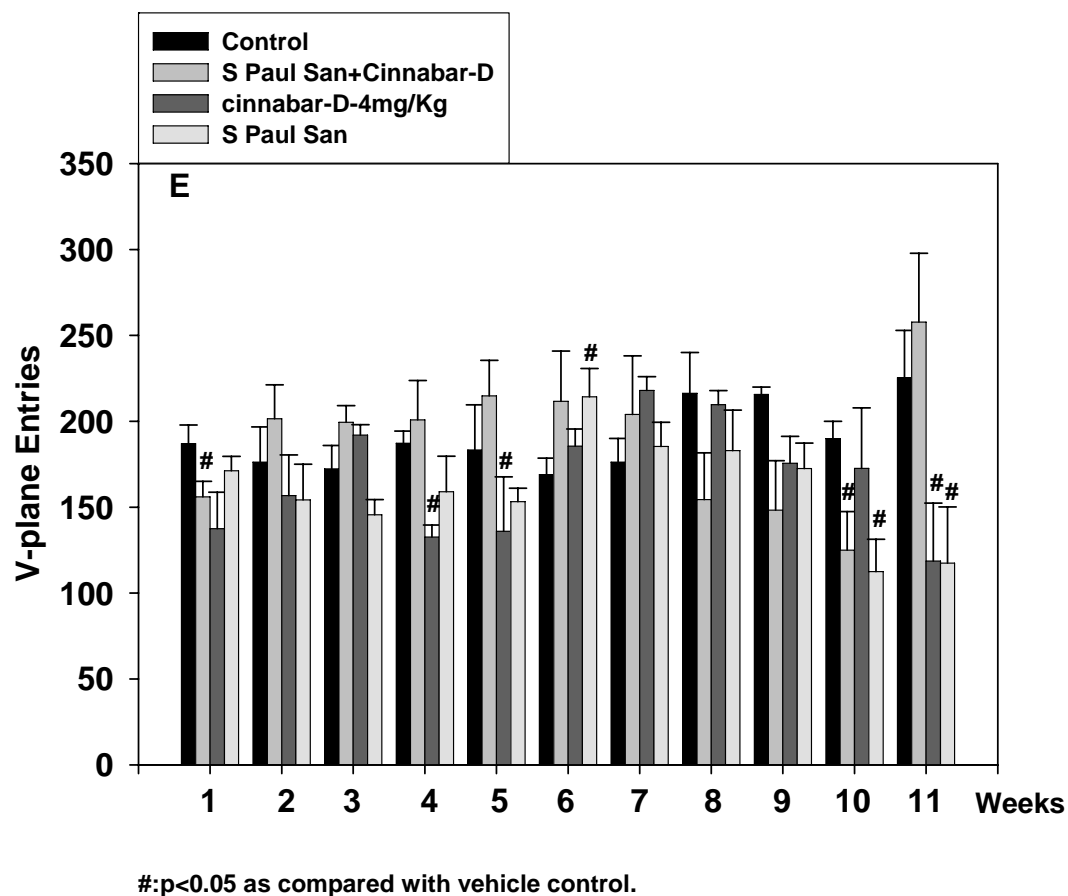


#:p<0.05 as compared with vehicle control.

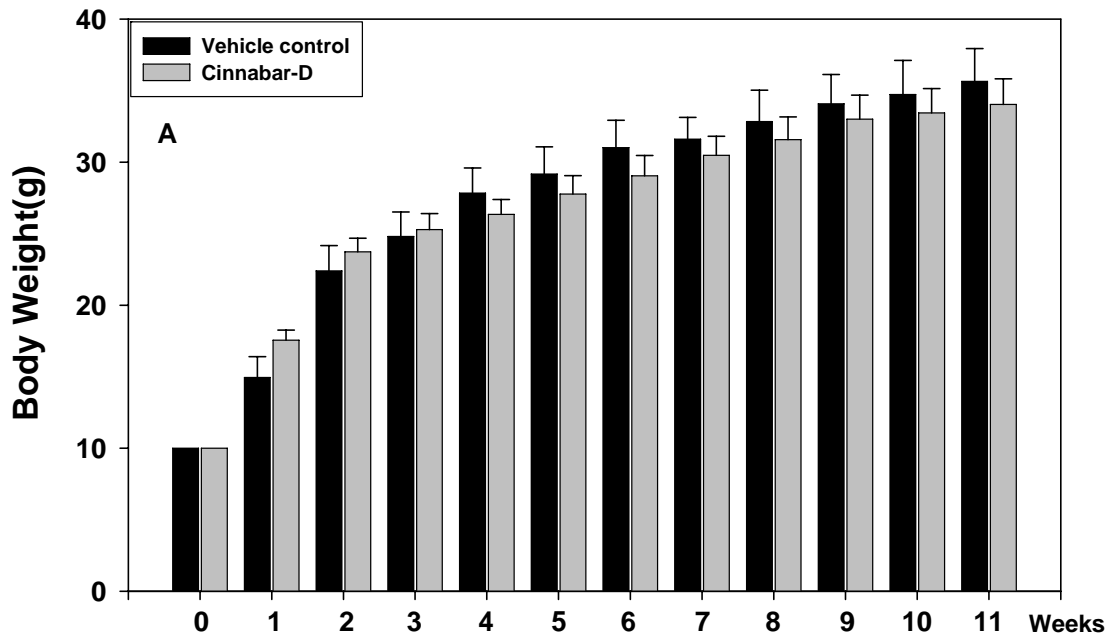
(圖二 C) 自發性運動量之影響：Jump



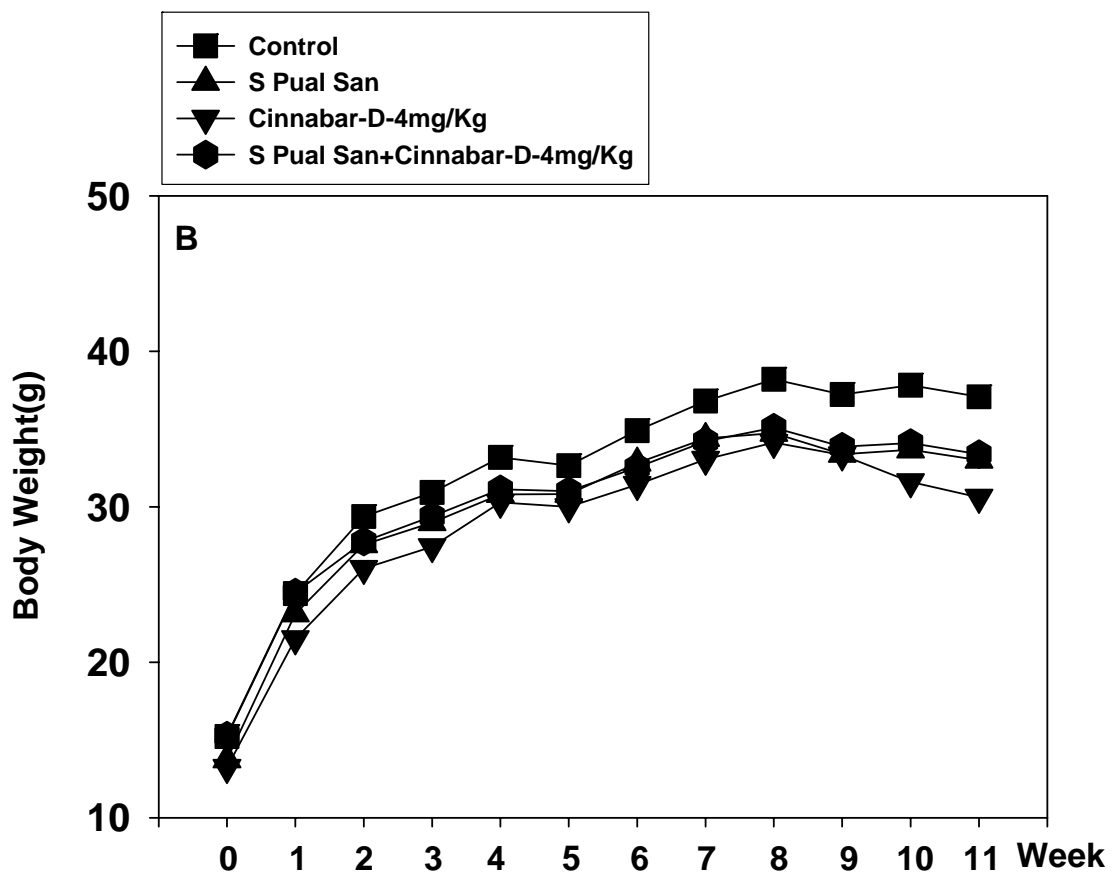
(圖二 D) 自發性運動量之影響：Stpy-1 Episodes



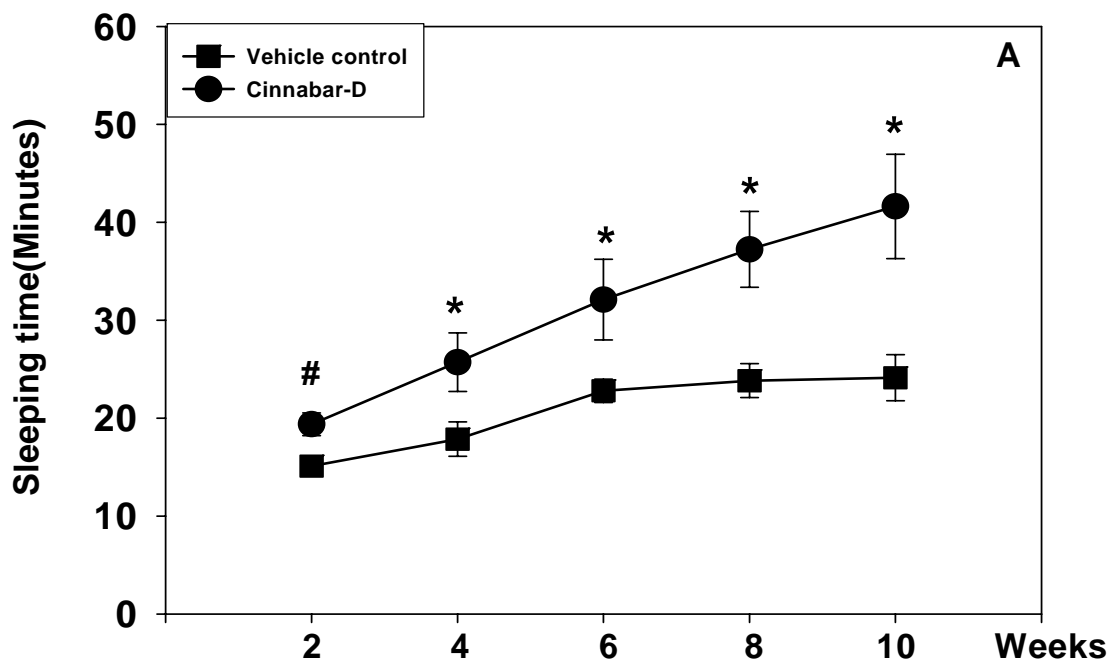
(圖二 E) 自發性運動量之影響：V-plane Entries



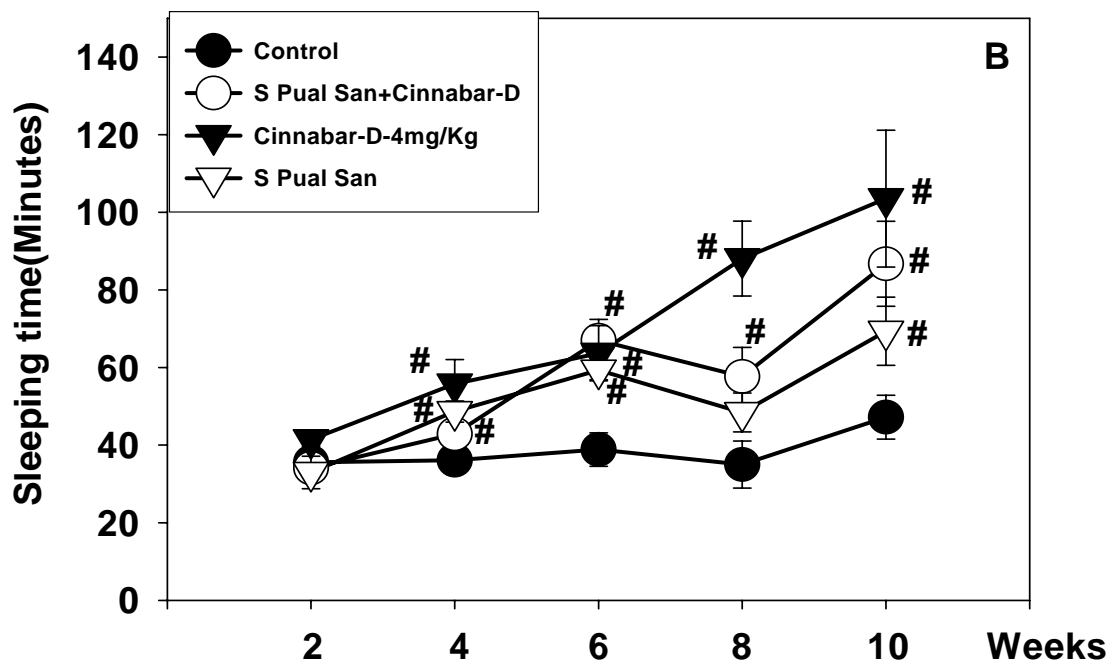
(圖三 A) 鼯鼠體重之變化



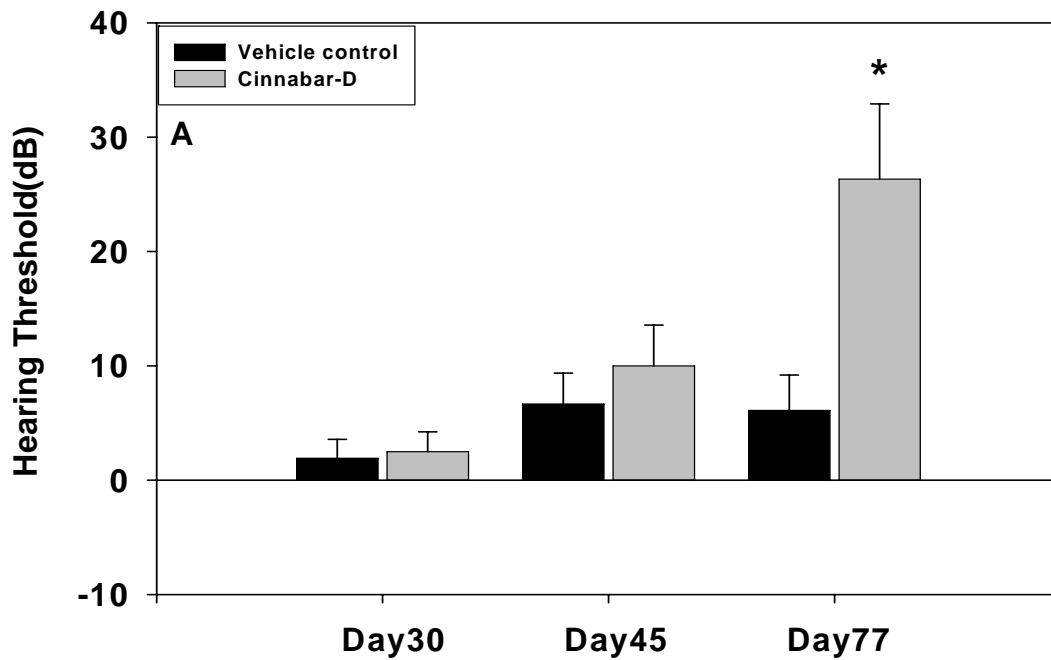
(圖三 B) 鼯鼠體重之變化



\* $p < 0.05$ , # $p < 0.01$  as compared with vehicle control  
 (圖四 A) 對 pentobarbital 誘發睡眠時間之影響

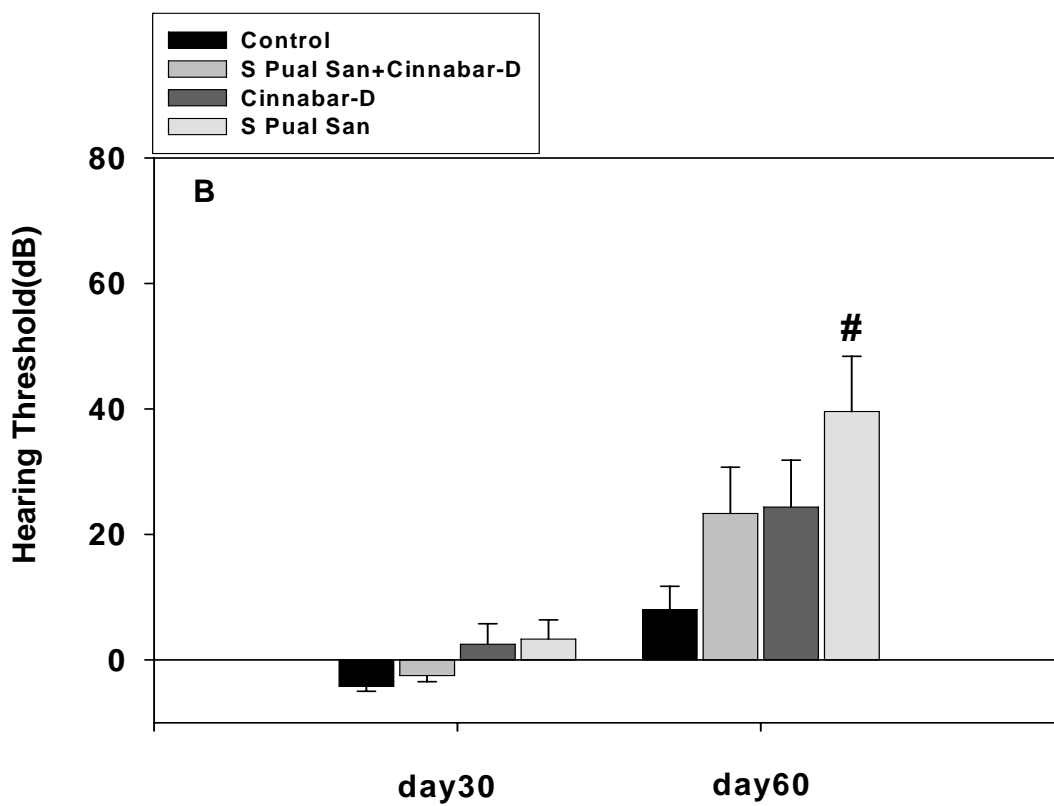


#: $p < 0.05$  as compared with control.  
 (圖四 B) 對 pentobarbital 誘發睡眠時間之影響



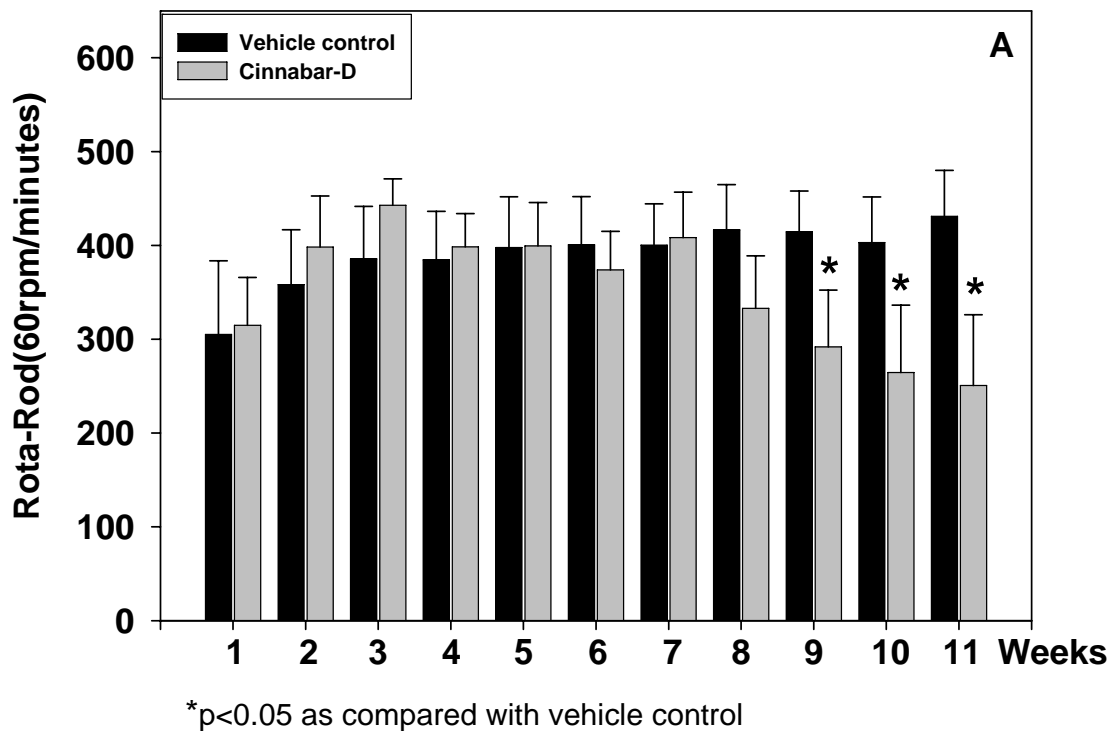
\*p<0.05 as compared with vehicle control

(圖五 A) 對於幼鼯鼠聽力腦幹神經訊息傳遞系統之影響

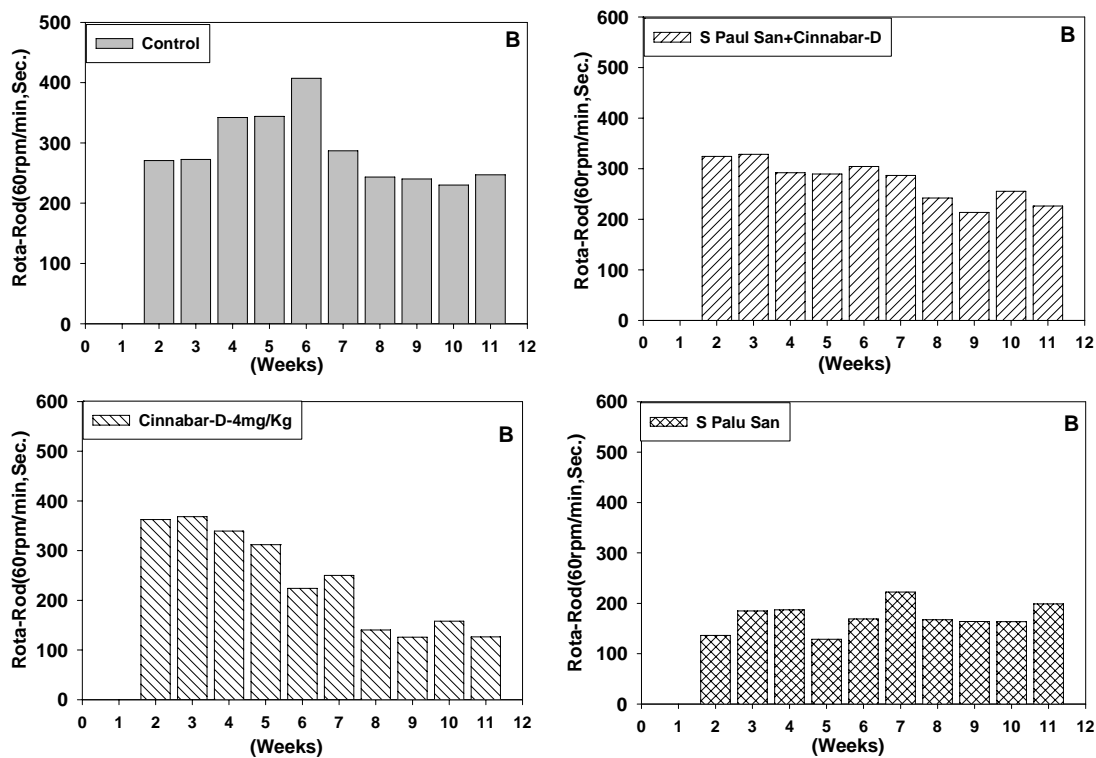


#:p<0.05 as compared with control.

(圖五 B) 對於幼鼯鼠聽力腦幹神經訊息傳遞系統之影響

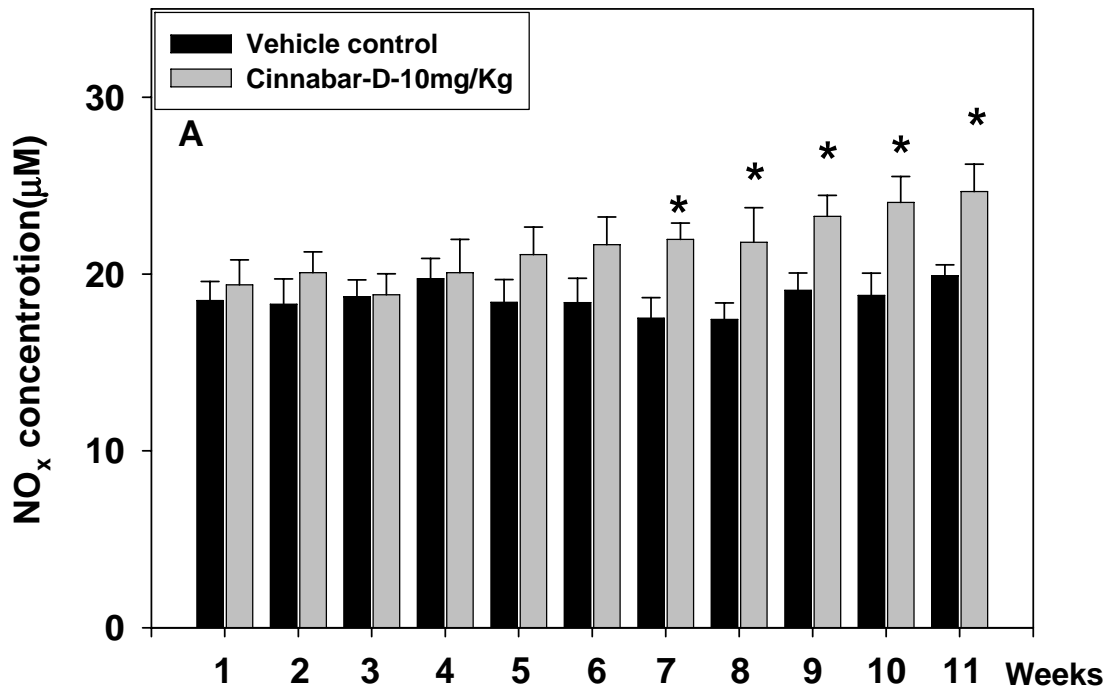


(圖六 A) 對於滾輪式運動能力之影響



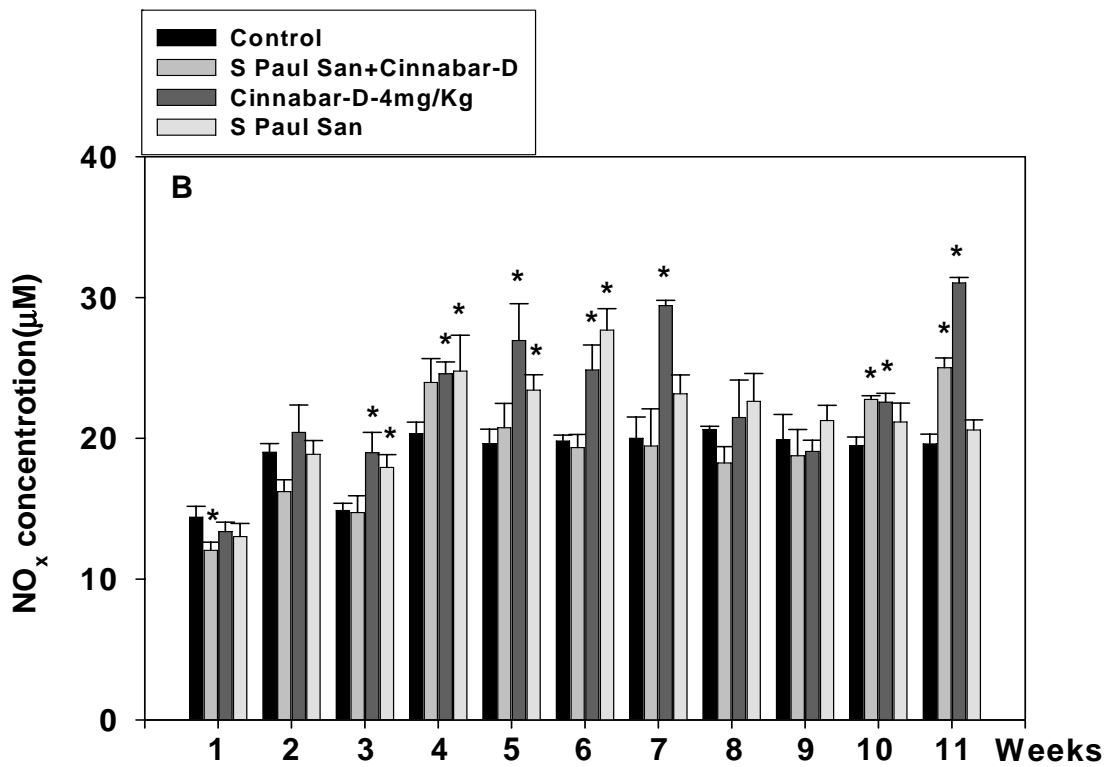
(圖六 B) 對於滾輪式運動能力之影響





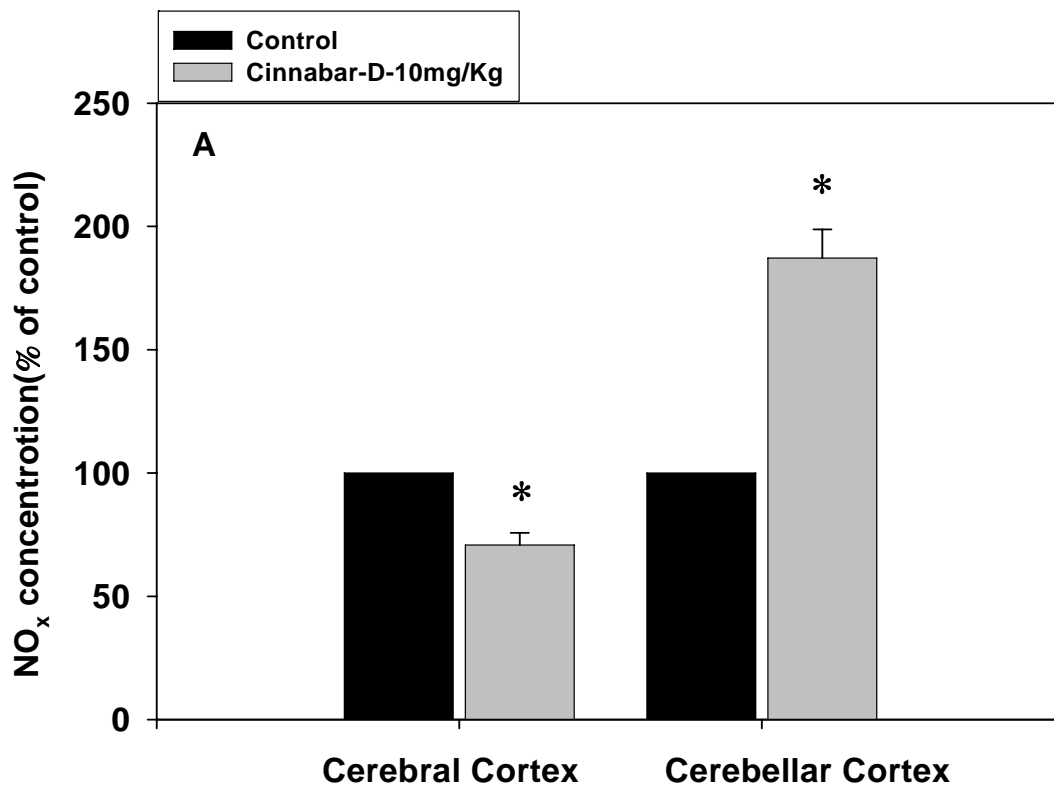
\*p<0.05 as compared with vehicle control

(圖七 A) 血液中一氧化氮 (NO) 之含量



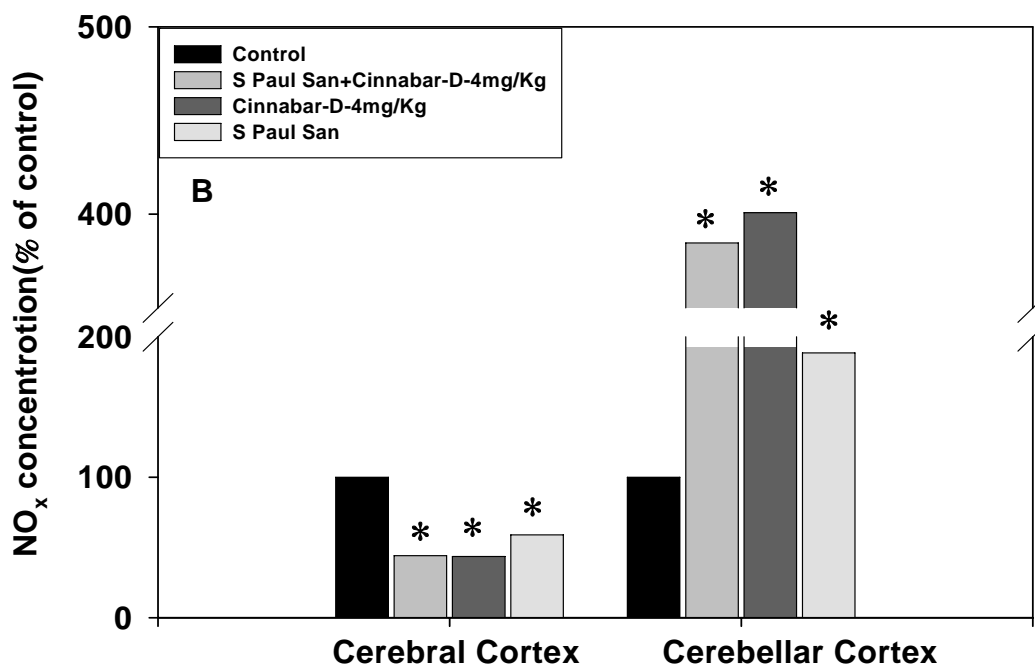
\*p<0.05 as compared with vehicle control

(圖七 B) 血液中一氧化氮 (NO) 之含量



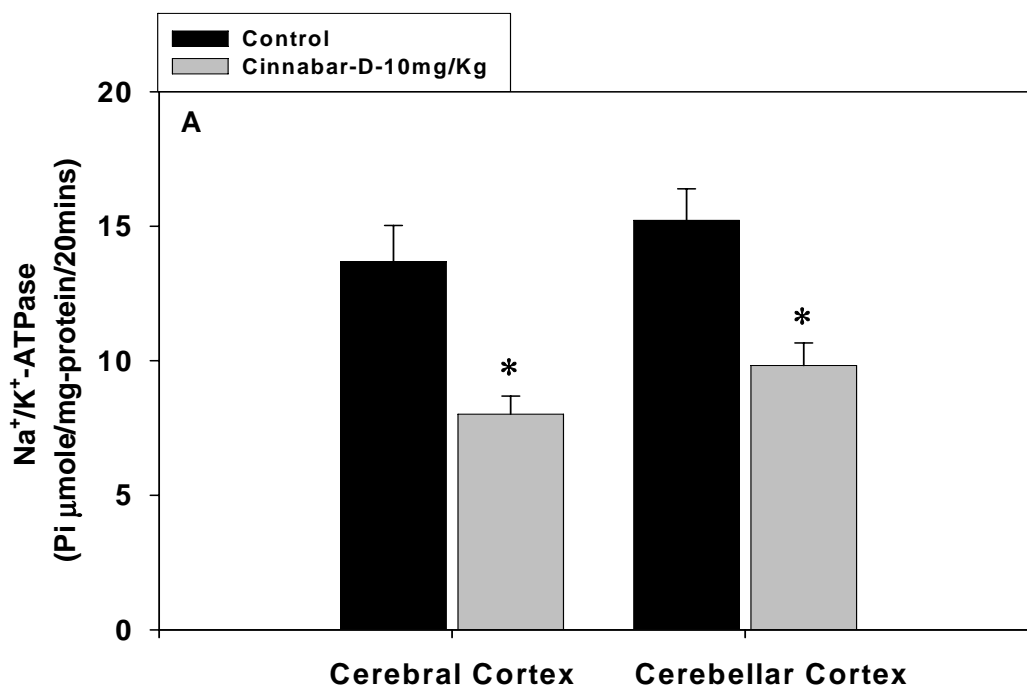
\*p<0.05 as compared with vehicle control, n>12.

(圖八 A) 組織中一氧化氮 (NO) 之含量



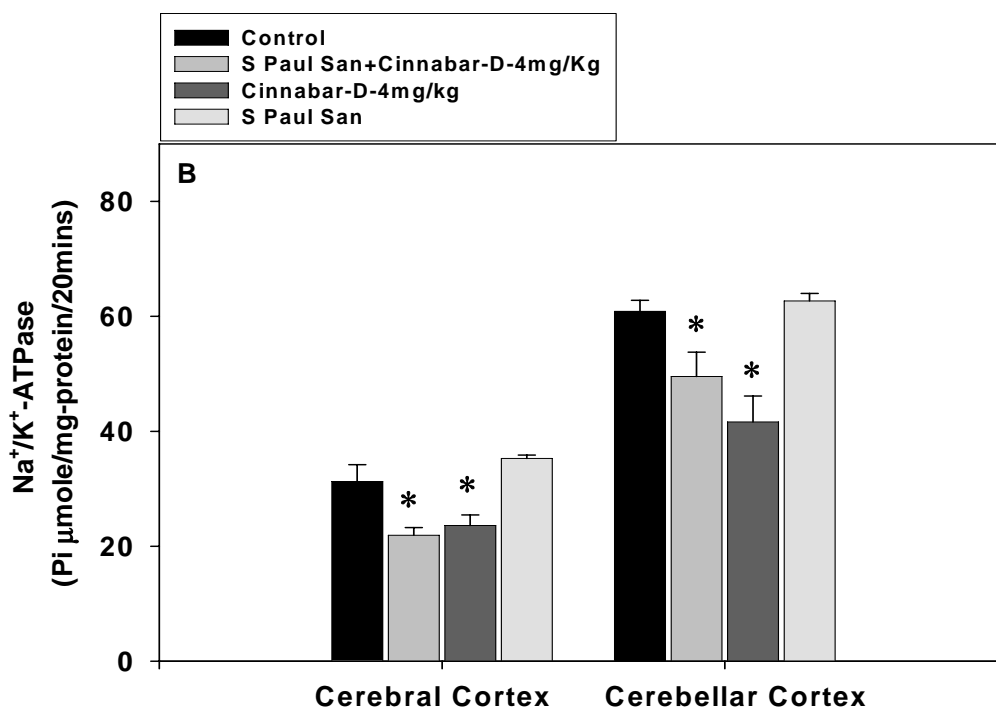
\*p<0.05 as compared with vehicle control, n>5.

(圖八 B) 組織中一氧化氮 (NO) 之含量



\*p<0.05 as compared with vehicle control,n>12.

(圖九 A) 組織 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase 活性之影響



\*p<0.05 as compared with vehicle control,n>6.

(圖九 B) 組織 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase 活性之影響

