

中药类急性毒性技术与LD₅₀值的分级

中国科学院上海药物研究所 (200031)

李建华

1 LD₅₀值的毒性分级

毒物研究涉及的范围很广,分类方法也不同,对动物毒性的 大小也不同,一般按照国际上分为剧毒、高毒、中毒、低毒、微毒(实际无毒)5种

(见表1)。毒物种类很多,分为工业毒物、药物毒物、农药毒物、植物性和动物性毒物、军用毒物。

上表强度分级是以毒物致死剂量指标为准,比

表1 小鼠LD₅₀ mg/kg 分级

	剧毒	高毒	中等毒	低毒	微毒(实际无毒)
湖南医学院	<15	15~150	151~1500	>1500	
苏联	15	15~1500	151~1500	1500~	
美国	1	5	500	5000	15000
作者初步认为	15	15~150	151~1500	1500~5000	≥5000

较客观,且易于确定,因为每一级毒性的定义在2组研究之间是不同的,至今国外没有取得一致意见,所以在评价实验结果,确定分级标准观点就不相一致。作者认为国内需要统一标准,对上表新药毒性定界分级方法是一个便于比较的相对指标,不能据以区分毒性作用的特点,是要结合三致试验和血清等各项毒性综合研究评价结果才能定论的。

2 低毒级

测试LD₅₀,选用动物死亡率在0%~100%之间,常使用4个剂量组,即在50%上下各有1~2个点。尤其对植物药的粗提制剂类,常因全身毒性小,在预定的给药后时间,动物不出现死亡毒性反应,故此难以测出LD₅₀。此时,可不必再按4个剂量组。而只做一个未死亡的阈值限量,或最大浓度剂量即可。

3 微毒(实际无毒级)

迄今对微毒剂量标准没有明确规定,在毒性反应确定用药安全范围方面,国际上没有统一标准可循。在动物实验或临床药理等实际工作中,有人做5g/kg,有的做5g/kg的2倍量,有的以超大剂量一次性灌胃,还有的给5g/kg,3~7d的用量……。作者认为确定微毒实验,尤其对粗制剂的剂量,以提取生药的最大剂量,相当于5g/kg以上的一次性灌胃较为适宜。

4 最大耐受量(超大剂量)

徐淑云等[4]指出:一般认为,按体重计算小鼠、静脉注射最大耐受量相当于人用剂量100倍以上,灌胃在200倍以上,则较安全,大部分中草药制剂都在100倍以上,可以提供临床应用。

作者经多年实践认为,当动物耐受静注为0.5ml,灌胃最大耐受量,按20g体重给1ml为限量。经灌胃后仍难以测出LD₅₀时,可给1~2次/d,共给6次以上,每只鼠的总给药量相当于6g以上生药提取量,又相当于每鼠累计所受的总药量为300g/kg以上,停药后再观察7d。

5 实验技术要求

5.1 灌胃前一律禁食1h以上,最大剂量5g/kg以上或最大耐受量一次性灌胃,按20g体重给1ml限量为佳。

5.2 当动物在首次灌胃前应禁食1h以上再称重,之后可不禁食进行多次灌胃。

5.3 静注常用最大量按20g体重注0.5ml为限量,推注速度均为30s;肌肉注射使用4 1/2针头,针进深2mm左右;灌胃针头进深为2.5cm之内。

5.4 常服药品应补做5g/kg以上,相当于1g/kg以上生药提取量的最大耐受量。选用雌雄各半,共给20~40只,至少灌胃6次以上量。

5.5 常采用助剂即水溶性或0.5%~0.2%CMC混悬液溶解药品进行常规灌胃,停药后再延长观察7d。凡多次给药前、后都要记录动物体重变化和外观症状表现,并计算出总给含生药提取量g/kg,相当于临床推荐剂量的倍数。

$$\text{安全系数} = \frac{\text{动物剂量} \times \text{人体体重}}{\text{临床剂量} \times \text{动物体重}}$$

6 实验结果评价

为了全面表达实验信息,完整动物实验申报资料,需要对实验的详细条件加以注明,拟写实验报

告更为妥当。

- 6.1 动物种属性别, 体重范围, 4个剂量选用等比或等差数的组别, 每组只数。
- 6.2 药品来源与配制方法, 给药途径, 禁食小时, 实验观察日期和温室。
- 6.3 观察毒性症状与每鼠死亡日期, 毒性术语表达法(见表2)。

- 6.4 急性实验观察期指植物类粗提制剂类, 7~10d, 除部分动物即刻死亡外, 余存动物需再延长观察2d, 俗称稳定期观察日。
 - 6.5 Bliss氏等统计法处理和附实验记录, 并署实验者姓名。
- 以上几点, 是我们多年实践经验的归纳, 供药理工作者参考。

表2 毒性术语表达法

系 统	中毒表现描述
神经系统	运动失调, 俯卧, 抽搐, 震颤, 活动的让减, 后肢无力和后肢反射, 角弓反张, 共济失调, 兴奋, 强直, 行动姿势改变。
呼吸系统	呼吸减少, 呼吸困难, 呼吸停止, 呼吸抑制而死亡。
胃肠系统	粪便不成形, 腹泻, 粪便出素, 呕吐、不随意排尿和排便, 恶心, 流涎。
外观症状	竖毛, 毛发松散, 潮湿狗的颤动, 消瘦, 行动速度。
外 感	疼痛感, 翻正反射, 角膜反射, 触觉敏感性及叫声。

致谢: 本文承吴良教授审阅

参 考 文 献

1 曲青山, 等编. 制定职业性有害因素标准的方法. 北京: 人民卫生出版社, 1980. 54

2 Deichman W B, et al. Toxicology of Drug and Chemicals. New York: Academic press, 1969. 9

3 李建华. 中国药理通讯, 1992, 9(4): 35

4 徐淑云, 等主编. 药理实验方法学. 北京: 人民卫生出版社, 1985. 400

(1993-10-23收稿)

(上接第363页)

3 讨论

一般认为, 苦参及其有效成分氧化苦参碱是一种双向免疫调节剂^[1, 2], 即其在低浓度时可刺激淋巴细胞增殖, 高浓度时则抑制之。我室实验结果显示, 氧化苦参碱对一小部分扁桃体来源的淋巴细胞表现为促进作用, 而对大部分扁桃体来源的淋巴细胞及小鼠脾细胞则只表现为高浓度时的抑制作用。这小部分扁桃体淋巴细胞表现为PHA、SAC低反应性。关于扁桃体淋巴细胞对PHA反应性上的差异已有发现^[3]。正常人淋巴细胞不管其来源均可呈现良好的PHA反应性^[4]。由于扁桃体摘除术大多在炎症后进行, 因此, 我们可以设想, 由于炎症的影响, 在手术摘除的扁桃体中, 有一小部分扁桃体的细胞功能状态不同于正常而呈现出PHA、SAC的低反应性。这一点也可由氧化苦参碱对小鼠脾细胞的作用呈现和对PHA、SAC高反应性的扁桃体淋巴细胞一致而得到进一步地证实。另外, 据报道^[5], 氧化苦参碱可以影响细胞膜流动性, 它可能以某种方式作用于细胞膜, 从而影响细胞功能。本次报道则表明: 氧化苦参碱对人和小鼠T和B淋巴细胞均可发挥作用, 并且此作用不受巨噬细胞存在与否的影响。说明氧化苦参碱可能以一种非特异的方式作用于细胞膜, 并且根据细胞膜状态的不同而对细胞起不同的效应。关于其和细胞膜的作用方式则可能是完全解释它作用机制的关键。

参 考 文 献

1 卡如漱. 抗炎免疫药理学与临床应用. 北京: 北京医科大学/中国协和医科大学联合出版社, 1992. 317

2 钱玉昆, 等. 中华微生物和免疫学杂志, 1988, 8(5): 312

3 余 贺. 医用微生物学. 第二版. 北京: 人民卫生出版社, 1983. 217

4 张 琪, 等. 中华微生物和免疫学杂志, 1992, 12(1): 41

(1993-07-08收稿)