

兽药新制剂促反刍LD₅₀和安全性试验

扈文杰 刘清玉¹ 李富娥 孔洁

(西北农业大学兽医系, 陕西杨陵·712100)

摘要 对兽药新制剂促反刍注射液(CFC)进行了急性毒性试验、局部刺激试验和过敏性试验。用90只小白鼠按点斜法试验设计,以剂间比为1:0.8的7个剂量组测得CFC腹腔注射的LD₅₀为35.05 mL/kg,95%置信区为31.2~39.39 mL/kg,相当于制剂主药总量5.054~6.389 mg/kg,符合化学物质分级低毒级标准。证明CFC为低毒药物,无过敏性,比较安全。因此有轻度刺激性,适于静脉注射。

关键词 促反刍注射液, LD₅₀测定, 安全性试验, 新兽药剂

中图分类号 S859.794

促反刍注射液(Injectio Cufanchui)是西北农业大学兽医药理教研室与兽药厂研制的以安钠咖、氯化钙、氯化钠及葡萄糖等为主药的复方注射液(简称CFC),具有调节大脑皮层兴奋和抑制过程,从而兴奋反刍,促进胃肠活动;强心利尿、兴奋循环、调节体液离子平衡;兴奋单核巨噬系统,提高机体防卫机能等作用。主要用于治疗牛、羊前胃弛缓,瘤胃积食等病,也可用于奶牛产后瘫痪、钙质缺乏和马类动物疝痛等病(症)的综合治疗。为了观察促反刍注射液的安全性,依照兽医新制剂申报的有关规定进行了该制剂LD₅₀的测定和安全性试验。

1 材料

昆明种小白鼠、肉用杂种兔、豚鼠均由西北农业大学兽医系动物房提供。试验前临床健康检查,观察一周,试验期间常规饲养。促反刍注射液500 mL/瓶由西北农业大学兽药厂提供(批号:880909,880828,880927)。

2 方法与结果

2.1 腹腔注射安全性试验^[1,2]

小白鼠30只随机等分为3组,分别试验1个批号供试品。按18 mL/kg体重剂量腹腔注射CFC,观察48 h。结果三组小白鼠均未见异常,无一死亡。表明本品腹腔注射安全。

2.2 股四头肌刺激试验

用体重2.23±0.27 kg的健康家兔5只,依法进行股四头肌刺激试验^[4]。每只兔左后肢股四头肌处注射供试品2 mL;右后肢股四头肌处注射灭菌生理盐水作为对照,进针角度30~45°,注射后48 h由耳静脉注射空气致死剖检,观察注射部位肌肉组织变化,依法

收稿日期:1992-09-28

★本课题由陕西省农办立项,促反刍注射液于1992年10月通过省级鉴定

1999

制定结果^[3],见表1。

纵向剖开股四头肌观察所见:5只试验兔左侧注射部位肌肉组织均未见异常;右侧注射供试品部位的肌肉组织均有充血,充血直径0.5 cm以下4只,接近1 cm的1只。此结果表明CFC有轻度局部刺激反应。

2.3 过敏性试验^[3]

健康豚鼠18只随机分为A,B,C3组(每组6只),分别注射不同批号供试品。每只深部肌肉注射供试品0.3 mL,隔日1次,连续3次(致敏)。然后每组再分为2个小组。1组于首次注射后第14日腹腔注射供试品2 mL(攻击);2组于首次注射后第21日进行攻击注射,剂量同1组,注射后立即观察。攻击注射后全部豚鼠未见搔鼻、竖毛、打喷嚏、抽搐、呼吸困难、排尿失禁、休克等任何过敏反应(见表2)。

表2 过敏性试验结果

组别	供试品批号	体重 $\bar{x} \pm SD$ (g)	首次攻击 致敏 间期 (d)	结果
A ₁ /A ₂	880909	319.2 ± 27.6	$< \frac{14}{21}$	未见异常
B ₁ /B ₂	880928	347.2 ± 4.0	$< \frac{14}{21}$	未见异常
C ₁ /C ₂	880927	349.2 ± 31.1	$< \frac{14}{21}$	未见异常

表1 兔股四头肌刺激试验结果

兔号	性别	体重 (kg)	左侧 (供试品)	右侧 (氯化钠)
1	♀	2.1	+	-
5	♀	2.0	+	-
6	♂	2.3	+	-
7	♂	2.3	++	-
8	♂	2.7	+	-

表3 急性LD₅₀测定结果

剂量组 (mL/kg)	剂量对数	动物数	死亡数	死亡率
70	1.8451	10	10	1
56	1.7482	10	9	0.9
45	1.6532	10	8	0.8
36	1.5563	10	7	0.7
29	1.4462	10	1	0.1
23	1.3617	10	1	0.1
18	1.2553	10	0	0

2.4 急性LD₅₀测定

用90只小白鼠(18~22 g)雌雄各半,进行急性LD₅₀测定。

2.4.1 预备试验 用20只小鼠,按序贯法进行预备试验,测得70 mL/kg腹腔注射为100%致死量。

2.4.2 正式试验 按孙氏点斜法^[4]设计,剂间比为1:0.8,7个剂量组分别为70、56、45、36、29、23和18 mL/kg,腹腔注射供试品(批号880909),结果见表3。

2.4.3 数据处理

(1)LD₅₀的计算 按综合算法公式计算^[4]:

$$LD_{50} = \log^{-1}[x_m - i(\Sigma p - 0.5)]$$

式中: x_m 为最大死亡率组剂量对数; i 为组距(相邻对数剂量差); Σp 为各组死亡率总和。

将所得数据代入上式算得促反当急性LD₅₀为35.05 mL/kg。

(2)计算95%置信区界(FL)

$$FL = \log^{-1}(x_{50} \pm 1.96xi \cdot \sqrt{\frac{\Sigma p - \Sigma p^2}{n-1}})$$

式中: x_{50} 为 $\log LD_{50}$; N 为各组内动物数。算得 $FL=31.2 \sim 39.39$ mL/kg。

3 讨 论

3.1 LD_{50} 毒性评价 使半数动物致死的剂量称为半数致死量即 LD_{50} (50% Lethal Dose)。由于试验动物误差, 动物致死量大都在“平均致死量”的上下形成正态分布。用平均致死量给一组动物用药, 则致死量小于平均致死量的半数动物必将死亡, 而大于平均致死量的半数动物则可耐受成活。因此药物致死量的平均值(平均致死值)也就是半数致死量(LD_{50})。 LD_{50} 是标志药物、毒物、感染物毒力强度的一种重要常数。化学物质按 LD_{50} 分为极毒、剧毒、中等毒、低毒和实际无毒 5 级^[6,7]。本试验测得促反刍 LD_{50} 为 31.20~39.39 mL/kg, 相当于主药总量 5 054~6 381 mg/kg, 符合低毒级(5~15 g/kg)标准。

3.2 关于刺激性 兔股四头肌刺激试验用以评价制剂局部刺激性强度。按照注射部位肌肉组织变化, 将刺激强度分为无刺激、极轻度刺激、轻度刺激、中度刺激、重度刺激、严重刺激、极严重刺激等七级。本试验促反刍具有轻度刺激是由于制剂中钙离子所致。常用的含钙注射剂如氯化钙、溴化钙、葡萄糖酸钙等注射液, 由于 Ca^{++} 浓度高, 刺激性大, 而促反刍 Ca^{++} 浓度低, 故刺激性小, 仅达轻度刺激。在 LD_{50} 测定中采用了腹腔注射途径, 由于腹腔液将供试品稀释, 故在观察中以及死后剖析中均未见对腹腔器官和腹壁有刺激现象。尽管如此, 为安全起见, 本品临床用药只供静脉注射。

参 考 文 献

- 1 中华人民共和国农林部, 兽医规范, 1978 年, 一部, 北京, 农业出版社, 1978, 附录 59
- 2 徐叔云, 卞如廉, 陈修主编. 药理实验方法学. 北京, 人民卫生出版社, 1982, 412, 400
- 3 浙江医科大学药系. 药理学实验. 北京, 人民卫生出版社, 1985, 202
- 4 孙瑞元. 简述实用半数致死量综合计算法. 药学报, 1963, 10(2), 65
- 5 Frank C W 编著, 吕伯钦, 陈君石, 徐晋虎译. 实验毒理学基础. 北京, 人民卫生出版社, 1987, 118
- 6 中华人民共和国卫生部. 中华人民共和国标准, GB7919-87, 1987, 25~27

LD_{50} and Safety Test of A New Veterinary Preparation

——“Injectio Cufanchui”

Hu Wenjie Liu Qingyu Li Fu'e Kong Jie

(Department of Veterinary Science, Northwestern Agricultural University, Yangling, Shaanxi, China. 712100)

Abstract The Injectio Cufanchui(CFC), a new veterinary preparation, is a composition injection for cure on Atonia Proventriculorum and Impalectio Rumin in cows and sheep. The acute toxicity and local stimulate and allergia of CFC were tested. The LD_{50} of CFC for peritoneal injection was tested by synthesis method (point-slope method) in 90 mice. The results indicate that the LD_{50} value is 35.05mL/kg, 95% of confidence area is 31.2~39.39mL/kg, which is as high as total content of drugs 5054~6389 mg/kg. The preparation was proved to be low toxiy and safe veterinary drug free of allergy. Therefore CFC can be intravenously intected because of its slight local stimulate reaction.

Key Word Injectio Cufanchui ; LD_{50} test; safety performance test; new veterinary preparation