

用动物急性死亡率法估计药物体存率与表观半衰期

赫梅生 唐丽芬 郭景阳 张玉芝 (中国医科大学药理教研组, 沈阳 110001)

提要 测定小鼠 ip LD_{50} 后, 再取小鼠分 5-8 组, 各组间隔不同时间(从 0.5 到 24 h 或更长)皆 ip 两次相同剂量(应处于 LD_5-LD_{95} 之间); 由各组的死亡率按公式求首次用药后不同时间的体存%并作图, 依此估算药物的表观半衰期。奎尼丁、咖啡因、磺胺嘧啶和农药白僵菌 (*Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.) 的表观半衰期分别为 4.1, 2.5, 19 和 29 h。

关键词 半数致死量; 半衰期; 奎尼丁; 咖啡因; 磺胺嘧啶; 白僵菌

测定药代动力学参数多以血药浓度, 或以尿或其他组织中药物浓度检测为前提^(1,2)。这不适于成分未明, 混合成分, 或尚无微量检测法的药物与毒物。我们探讨了用动物急性死亡

1982年6月11日收稿 1984年10月15日修回

率法估计这些药物体存率与表观半衰期的可能性。

方 法

原理 通过两次给药(间隔 24 或 48 h)观察动物死亡率以测定药物蓄积性的方法已有记载⁽³⁾。这只能测出用药后一个时间的情况而不能反映动态变化规律;且多数药物此间隔时间已超过 5 个半衰期($t_{1/2}$),体内药物所余无几,测不出准确数值。我们把药代动力学中多点动态测定的原则与用动物死亡率测定蓄积性的方法结合起来,并使某些给药间隔时间尽量缩短,以期较准确地观察药物体存率的动态变化情况,进而估计出药物的表观 $t_{1/2}$ 。

步骤 1. 按文献⁽⁴⁾先测小鼠 ip LD_{50} , 用“对数剂量-死亡机率单位”(D-P)画图。2. 剂量的确定, 取 LD_5-LD_{95} 范围内剂量, 两次相同量用药。3. 确定两次用药的间隔时间, 取 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24, 48 和 72 h 中 5-8 个时间组。4. 按性别、体重等

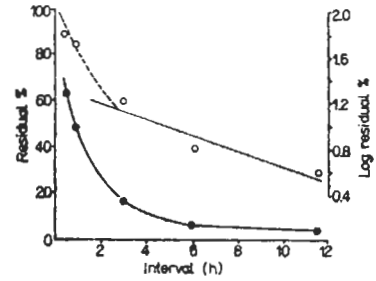


Fig 1. The "interval time-residual % (or in log) relationship" after quinidine sulfate.

组间一致原则分小鼠为 5-8 组, 每组 20-40 只, 第一次给药后不同时间第二次用药, 观察两次用药后的死亡率(不再出现死亡为止)。每鼠每次 ip 药液容量为 0.5 ml。

计算方法 由表查出各死亡率的机率单位, 按 D-P 直线找出死亡率的相应剂量(真数), 按下式计算药量或药效的体存%。

体存% = (死亡率相应的函数剂量 - 第二次用量) / (第一次用量) × 100% [1]

上式第一次和第二次用量在本法是相等的。就时间(亦即间隔时间)与体存%(或 log 体存%)

Tab 1. Mortality and calculation of residual %

Group	Interval (h)	Mice	Death			Corresponding dose (mg/kg)	Residual	
			n	p	probit		%	log %
Quinidine sulfate (LD_{50} 165 mg/kg, dose 137 mg/kg)								
1	0.5	40	39	0.98	6.96	224	64	1.80
2	1.0	40	37	0.92	6.44	206	50	1.70
3	3.0	40	17	0.42	4.81	160	16	1.20
4	6.0	40	9	0.22	4.24	146	6	0.78
5	11.5	40	7	0.18	4.07	142	4	0.60
Caffeine (LD_{50} 273 mg/kg, dose 226 mg/kg)								
1	1.0	20	20	1.00	7.62	400	77	1.89
2	2.0	20	19	0.95	6.65	348	54	1.73
3	4.0	20	16	0.80	5.84	310	37	1.57
4	6.0	20	5	0.25	4.33	251	11	1.04
5	8.0	20	6	0.30	4.48	256	13	1.11
Beauveria bassiana (LD_{50} 128 mg/kg, dose 117 mg/kg)								
1	3.0	20	17	0.85	6.04	175	46	1.66
2	6.0	21	20	0.95	6.65	193	65	1.81
3	12.0	20	16	0.80	5.84	163	40	1.60
4	24.0	20	14	0.70	5.52	153	31	1.49
5	48.0	20	11	0.55	5.13	133	14	1.15
6	72.0	20	8	0.40	4.75	123	5	0.70

作图,即得出一次用药后体存%的动态变化。此变化若符合一级动力学规律,则可按已有方法估计其表现 $t_{1/2}$ 。

小鼠 体重 $18.6 \pm SD 2.0$ g, 每批实验性别相同。

结 果

已知药代动力学参数或半衰期的药物

1. 奎尼丁硫酸盐(BDH, 批号 309253), 称 1.0 g 加 7 ml 4 N HCl 使溶解, 再加水配成 5.0% 母液, pH 5-6, 用前稀释至所需浓度。

LD_{50} 为 165 ± 11 mg/kg ($p = 0.95$), D-P 直线斜率为 1.45/0.10 (分母是 log 剂量, 分子是死亡机率单位)。实验用剂量为 137 mg/kg, 相当于 LD_{14} 。结果及计算如表 1。体存%以第 1 组为例按 1 式计算: $[(224 - 137)/137] \times 100\% = 64\%$ 。就时间与体存%和 log 体存%作图 1 (0 h 的体存为 100%)。

由图 1 可见: 呈二房室模型, 约 3 h 以后可视为消除相, 此相符合一级动力学规律, 故可借用药代动力学有关公式^(1,2) 估算某些参数。当然本法估计出的参数都具有“表现的”性质。

β 相消除速率常数 $K = (\ln X_1 - \ln X_2) / (t_2 - t_1)$, 今取直线上任意两点 4 及 7 h, 相应的 log 体存%为 1.05 及 0.83, 乘以 2.3 换算成 ln, 则 $K = (2.3 \times 1.05 - 2.3 \times 0.83) / (7 - 4) = (2.42 - 1.91) / 3 = 0.17/h$ 。

β 相的 $t_{1/2} = \ln 2 / K = 0.693 / 0.17 = 4.1$ h。

文献报道 19 名病人口服奎尼丁硫酸盐后, 液相色谱测血药浓度, $t_{1/2}$ 平均为 4.5 h, 但个体差异很大⁽⁶⁾。10 名正常男人口服此药, 消除速率常数平均为 0.0017/min⁽⁶⁾, 则 $t_{1/2}$ 为 6.7 h。

2. 咖啡因(Bayer 的纯结晶粉), 3.0 g 加温水 180 ml, 再加 4 N HCl 10 滴至全溶, 以 4 N NaOH 8 滴中和至 pH 6, 配成 1.5% 母液备用。

LD_{50} 为 273 ± 17 mg/kg, D-P 直线斜率为

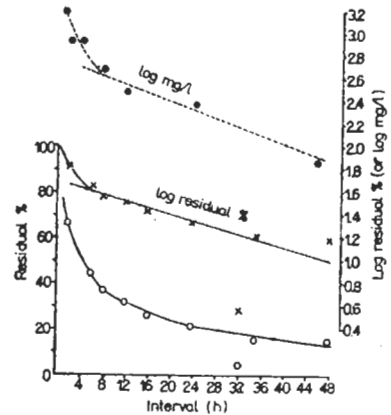


Fig 2. The "interval time-residual % (or in log relationship)" and "interval time-log blood drug concentration relationship" after sulfadiazine sodium.

1.62/0.10。剂量 226 mg/kg, 约相当 LD_8 。结果及计算如表 1。作图知为二房室模型; 消除相为 1 h 以后; β 相 $K = 0.28/h$, $t_{1/2} = 2.5$ h。

文献载此药 $t_{1/2}$ 为 3.5 h⁽⁷⁾。

3. 磺胺嘧啶钠(上海第十制药厂的注射剂, 5 ml 含 1.0 g, 批号 731016), 以蒸馏水稀释。 LD_{50} 为 794 ± 78 mg/kg, D-P 直线斜率为 0.74/0.10。剂量 695 mg/kg, 约相当 LD_{36} 。共做了两批 9 组(每组 40 或 80 只小鼠)的实验。结果如图 2 之实线。

为了与血药浓度法直接对照, 给小鼠 ip 此药 500 mg/kg, 不同时间后断头采血(每时间组 4 鼠血相混), 用 thymol 法测血药浓度。“时-量关系”如图 2 之虚线。

由图可知: 为二房室模型; 8 h 后呈消除相; 两法所得直线接近平行, 本法算出的 β 相 $K = 0.037/h$, $t_{1/2} = 19$ h, 血药浓度法 $K = 0.041/h$, $t_{1/2} = 17$ h。

文献载病人口服磺胺嘧啶 1 g, 血药浓度 $t_{1/2}$ 平均为 17 h⁽²⁾。

农药白僵菌 (吉林省农科院供给) 纯分生孢子, 以蒸馏水在乳钵中研成 1% 悬浮液。用前再稀释, 操作中不断振摇。 LD_{50} 为 128 ± 11 mg/kg, D-P 直线斜率为 1.12/0.10。剂量 117 mg/kg, 约相当 LD_{30} 。结果见表 1 下部, 求知

β 相 $K = 0.024/h$, $t_{1/2} = 29$ h.

给小鼠灌胃投药, 最大耐受量 > 2.5 g/kg, 这说明此药在消化道吸收极少。

讨 论

本法测得 3 个已知药的 $t_{1/2}$ 与文献所载者大体相似, 但个别的差异也很大。

我们原担心剂量过大, 有可能超出机体消除能力的极限, 以致变为零级动力学。结果证明 4 个药物消除相仍为一级动力学。

本法关键点: 1. LD_{50} 测定和 D-P 直线应准确。2. 剂量应在 LD_5-LD_{35} 之间, D-P 线斜率大的宜小, 反之宜大。3. 间隔时间不宜少于 5 个, 消除快的间隔宜短, 慢的宜长。

3 个已知药的结果皆呈二房室模型, 这表明 ip 给药因吸收面积大, 吸收快, 几乎不受吸收相的影响。我们认为测定 LD_{50} 应以 ip 法

为主, 但也要灌胃, 两者相比可说明该药经消化道时的生物利用度问题(见白僵菌结果)。

参 考 文 献

- 1 小久江榮一、下田 策. 生体内動態解析法. 見: 白須泰彦、吐山丰秋. 毒性試験ハンドブック. 第 1 版. 東京: フジ. テクノシステム, 1980: 417-55
- 2 Kruger-Thiemer E. Pharmacokinetics. In: Van Rossum JM, ed. *Kinetics of drug action*. 1st ed. Berlin: Springer, 1977: 63-123
- 3 《工业毒理学实验方法》编写组. 工业毒理学实验方法. 第 1 版. 上海: 上海科学技术出版社, 1979: 66-70
- 4 孙瑞元. 药学报 1963; 10: 65
- 5 Carlimer NH, Crouthamel WG, Fisher ML, Muamon MA, Vassar DL, Narang PK. *Am Heart J* 1979; 98: 708
- 6 Guentert TW, Holford NHG, Coates PE, Upton RA, Riegelman S. *J Pharmacokinetic Biopharm* 1979; 7: 315
- 7 Lockhart EE. *JAMA* 1964; 187: 380

Acta Pharmacologica Sinica 1985 Sep; 6 (3): 213-216

ESTIMATION OF RESIDUAL RATE AND APPARENT HALF-LIFE TIME OF DRUGS WITH THE METHOD OF ACUTE MORTALITY OF ANIMALS

HE Mei-sheng, ZHAN Li-fen, GUO Jing-yang, ZHANG Yu-zhi

(Dept Pharmacology, The China Medical College, Shenyang 110001)

ABSTRACT The ip LD_{50} of mice was determined from "log dose-death probit" straight line. The mice were divided into 5-6 groups, 20 or 40 mice in each group. The same doses (which should be in the range of LD_5-LD_{35}) were injected at intervals varied from 0.5 to 72 h. The mortality of each group after 2 dosages was obtained and its corresponding dose was found from the above-mentioned straight line. The residual % after the first dosage = (Corresponding dose of that mortality - Given dose) / (Given dose) $\times 100\%$. On the basis of "interval time-residual % relationship", a curve of

dynamic change in residual % after initial dosage was drawn, taking residual % in log to make the diagram a straight line during elimination phase. This line resembled that obtained by the method of blood drug concentration. By this method, the $t_{1/2}$ of quinidine sulfate, caffeine, sulfadiazine sodium, and the pesticide *Beauveria bassiana* were estimated to be 4.1, 2.5, 19, and 29 h, respectively.

KEY WORDS lethal dose 50; half-life; quinidine; caffeine; sulfadiazine; *Beauveria bassiana*