

生物测定

—定量药理学—

定檢生物

—定量藥理學—

陳牧羣編著 徐玉均校閱

新醫書局出版

書刊出版營業許可證 出字第002號

開本：25 頁數：137 字數：260,000

生 物 檢 定

書號：0392

編 著 者	陳	收	羣
出 版 兼	新	醫	書
發 行 者	杭 州 馬 市 街 醫 國 弄 四 號		
	上 海 漢 口 路 六 二 七 號		
	北 京 宣 內 大 街 八 五 號		
印 刷 者	新	醫	印
	杭 州 肅 儀 巷 二 四 號		

1—2,500 一九五三年十二月初版

定價人民幣一萬八千元

前 言

這本小書的印出，恰值我們偉大的祖國進入大規模建設的伊始，在目前的藥物檢定工作中，如果它真起了一小部分的作用，自然是編者所希望也是衷心高興的事。而事實上，由於個人業務修養不足，政治水平不高，遺誤之處誠恐難免，因而惶愧之餘，只有請讀者隨時批評與指教了。

脫稿前，中國藥典尚未出版，因此有些名詞和檢定操作未能統一。這些缺陷，擬待第二版時連同蘇聯先進材料一併加入。

在編寫中，承國內專家惠允引用原著圖表，姜幼生同志代製插圖多幀，山東醫學院藥理學教研室諸同志的熱情惠助，最後又蒙北京醫學院徐玉均教授詳予校訂，都是令編者銘感而應予致謝的。

陳 牧 羣

於 濟 南 一九五三，十一。

生 物 檢 定

目 錄

前言.....	1
一、生物檢定一般介紹.....	1
二、檢定中應用的單位及計量法.....	11
三、洋地黃的生物檢定.....	26
四、麥角的生物檢定.....	42
五、箭毒鹼的生物檢定.....	49
六、退熱鎮痛藥的生物檢定.....	59
附：熱原(致熱質)的檢查法.....	68
七、局部麻醉藥的生物檢定.....	70
八、肝素的生物檢定.....	79
九、甲狀腺製劑的生物檢定.....	82
十、腦垂體後葉製劑的生物檢定.....	89
十一、胰島素的生物檢定.....	117
十二、卵巢內分泌素的生物檢定.....	136
十三、睪丸素的生物檢定.....	151
十四、腎上腺素的生物檢定.....	162
附：乙醯胆鹼的生物檢定.....	180
十五、阿託品的生物檢定.....	184
十六、維生素D與維生素A的生物檢定.....	188
附：維生素P的生物檢定.....	196
十七、青黴素的生物檢定.....	198
附：藥品的滅菌檢驗法.....	206

十八、驅條蟲藥的生物檢定.....	209
十九、抗阿米巴藥的生物檢定.....	213
二十、抗瘧藥物的生物檢定.....	219
二十一、抗黑熱病藥的生物檢定.....	229
二十二、抗血吸蟲病藥的生物檢定.....	236
二十三、新胂苯胺的生物檢定.....	242

附

錄

二十四、實驗用動物的飼養與應用.....	253
附錄一 英國藥典 1953 中，對幾種重要藥物檢定結果的 規定.....	264
附錄二 常用的動物實驗生理鹽溶液.....	264
附錄三 薰紙與染紙.....	265
附錄四 華氏攝氏溫度的換算.....	266
附錄五 我國目前通用的度量衡單位名稱對照表.....	266

一、生物檢定一般介紹

總說——現在我們所應用的藥物中，有很多是已經知道其化學結構的純品，如衆所周知的辛可那皮、鴉片等，都含有很多種有效的自然產物（生物鹼類），可以提煉純淨，然後加以定性定量的化學分析。有的在測定一種藥物效力時，僅僅分析其所含的某一特別化學基團或成分即可；如甲狀腺素的效價，只需檢定其乾燥腺體之含碘量即足以表示其藥效。相反的，還有不少常用藥物，僅憑化學或物理的檢定分析並不能很滿意的表明了它們對生物體的作用效能。舉個例子，如新腫凡納明，這種製劑只用化學方法分析其砷含量，並不能完滿的說明其毒性大小，和療效強弱。甚且一些自然產品像洋地黃、腦垂體後葉製劑、胰島素、麥角、及維生素內分泌類；直到目前，我們還沒有發現一種更合適更有效的化學、物理方法來決定它們有效成份的含量。再如在生物體中神經系的化學傳導物乙酰胆鹼，因為在組織中含量過低，除了藉生物體的反應，沒有任何其他的方法可以檢定出它存在的含量來。

更明白的說，當一種藥物，我們不能用簡便的化學或物理的方法（諸如旋光計檢定法，分光計檢定法，極譜分析檢定法等）來確定其有效成分之含量，同時也不易將其所含的雜質盡行除去時，乃採取生物檢定方法來達到我們的目的。其主要原則是將被檢定的藥物，與標準製劑或其純粹有效成分，在實驗室嚴格規定條件下，比較它們對生物體（包括了大大小小各種可能利用的生物）所生的反應，自然，在檢定中所取的標準品與被檢定的藥品，所含主要成分上必須一致才行。比如腦垂體後葉製劑與鉀鹽，雖都可以引起離體豚鼠子宮收縮，因而有人倡議用「鉀當量」，來表示腦垂體後葉的效價。但是他們忽視了各個豚鼠子宮肌對鉀鹽與對垂體後葉的敏感度是並不一致，所以這種觀點和方法將有礙於結果的正確。同時我們也要注意，在檢定藥物時，對動物所發生的預期的效應，未必一定是臨床上所應用的效應。如胰島素可利用它令小白鼠產生驚厥而推知其效價，而臨床上却是用胰島素來治療糖尿病的。總之，不論藥物之來源如何，凡是應用生物體的反應而測定它們療效和毒性的方法，便叫作生物檢定。它是應用了全部藥理學上及其他有關

部門的技術。不過，在這樣的一種檢定操作中，一般所費的手續經濟和時間，是比用化學方法，物理方法來得麻煩，而且結果的準確性也較差的。由下表可知在生物檢定中所用方法之廣泛。

表 1 生物檢定中常用的方法

應用的方法 藥物名稱	煙鼓描記	動物體重之增減	器官重量變化	液體容量變化	動物形態之改變	動物的死亡	實驗感染 的療效
麥角製劑					✓		
腦垂體後葉製劑	✓			✓			
維生素 A		✓					
洋地黃製劑						✓	
麝島素					✓		
腎上腺素	✓						
畢丸素			✓				
新肺凡納明						✓	✓

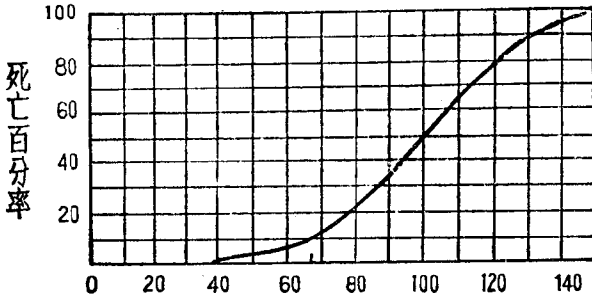
除了上面所說的理由外，尤有進者，腎上腺素的幾種同構異性體中，不旋體只具其左旋體效力的 $\frac{1}{18}$ ，右旋體只具左旋體效力的 $\frac{1}{18}$ 。他如麻黃素，六種同構異性體中只左旋麻黃素與右旋麻黃素有藥理作用。則只憑目前我們所知的化學方法，實無濟於事。當然，一旦當化學的技術進步到相當的程度，藥物的化學檢定也可能取代了生物檢定。

檢定方法的分類——

按所應用方法的不同，可分下列四種：

(1) 各個動物致死劑量測定法：以採用小而易得到的動物為原則，一般常用蛙、小白鼠、大白鼠、豚鼠、甚至貓等，測定藥物之毒效，而以致死量表示之，譬如用蛙法檢定洋地黃時，所採用之一半致死量 LD_{50} 即為一例。

第一圖 青蛙死亡百分率與洋地黃劑量的關係



劑量 (以 LD50 之百分數表之)

(2) 動物某種變化測定法：用藥於動物以產生某種特殊的變化，以測定該種藥物之效力。如前述及之胰島素令小白鼠發生驚厥，他如麥角之令雞冠變色，睾丸素之令去勢雄雞冠面積增生，腎上腺素靜脈注射令動物血壓升高，洋地黃之使鵝嘔吐，阿託品之對流涎影響等。

✓(3) 離體組織變化測定法：取動物的離體器官，放在很合適的環境中使其繼續活動，然後加入被檢定的藥物，而以該器官所生反應的大小程度，來判斷藥物的效價，常用的動物離體組織如小腸、離體蛙心、子宮肌、水蛭背肌、蛙腹直肌等。

(4) 實驗性傳染之療效測定法：取適宜的動物使發生某種實驗性的傳染病，然後用有關的藥物予以治療，則該藥的療效極易測定。如令白鼠感染以馬疫錐蟲，再測定某種有機砷化合物肅清或改變此種傳染之有效劑量。

按所用方法的性質又可分二類如下：

(1) 定性的方法：按照藥效之發生與否，如用蛙法貓法檢定洋地黃時，心臟停止於收縮期，則為正反應，否則為負反應，二者在反應的性質上顯然不同。

(2) 定量的方法：按照藥物作用的程度輕重不同，而測定其效價，如血壓升高之水銀柱毫米數，子宮肌反應之強弱不等。

事實上將檢定的定性法和定量法，嚴格的分開是不妥當的，一大部分的檢定實驗中已將二者都包括在內了。

至於生物檢定所涉及的藥物種類大概分類如下：

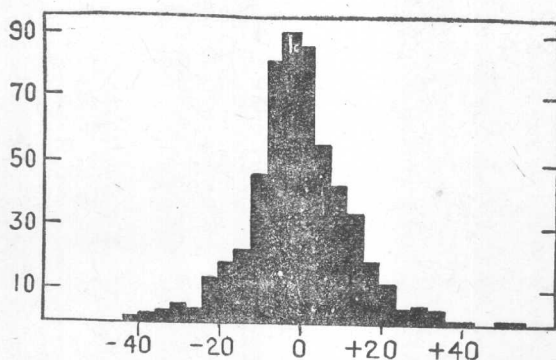
1. 天然產品 {
 - a. 維生素類——維生素 A，維生素 D 等。
 - b. 內分泌素類——腎上腺素，胰島素等。
 - c. 細菌製劑——毒素，抗毒素，類毒素等。
 - d. 植物製劑——麥角，洋地黃。
 - e. 抗生素類——如青黴素等。
2. 綜合藥物如新脾凡納明及葡萄糖酸錒鈉等。

操作原則——生物檢定的操作方法，自然每種藥物都不盡同，甚至一種藥物中即有三四種的檢定方法。但其基本原則乃是在標準情況下，對於適當的動物或器官，用不知效價的被檢品，試驗其產生某一種作用的劑量。最初，此種試驗的結果，是用動物的單位來表示的，如洋地黃的貓單位乃是指貓每體重一公斤，致死時所需洋地黃粉末的毫克數。但據很多人研究的結果，發現了這種方法實在太不可靠。因為由於生物體先天體質、年齡、性格、飲食、環境季節，生理狀態的不同，而致各個動物對某一種藥物製劑的感應性（應激機能），懸殊很大。加之不同實驗室中所馴養的動物，也不相同。退一步言，即便在同一實驗室中，採用了同一的動物，而因為在實際操作中各人的習慣不同，其所得結果也大有軒輊。自然應用的動物愈多，所得到的結論愈是可靠。

爲了減少動物因感受性不同而引起的錯誤來源。早在 50 年前便由埃利希氏^①(1897)倡用了標準的白喉抗毒素對比製劑。此後生物檢定的主要原則乃在兩組同類動物，或有時在同一動物（或同一器官），繼續試驗已知（標準製劑，目前用於檢定用的國際標準品已在 40 種以上）與未知（被檢品）二種藥物，最後求得被檢品某種劑量所生之效應與所用已知劑量之標準製劑

①埃利希氏 Paul Ehrlich 1854—1915

第 二 圖



de Lind van Wijngaarden 在 1926 年用 573 隻貓的實驗結果，縱座標為貓數，橫座標 0 代表平均值（洋地黃之致死量）致死量可低至平均值之 44%，高至平均值之 56%。

效應相當。則被檢品之效價與標準品效價適成反比例，因之被檢品之效價可用已知效價之標準品的百分率表示之：

$$\text{被檢品效價的百分數} = \frac{\text{標準品用量}}{\text{被檢品用量}} \times 100$$

在許多例子中，僅僅應用這樣簡單的計算法，不易得到正確的結果，故在某些檢定操作中往往基於觀察一種相當的，而不必相等的效應。進一步掌握着統計學上的原則和方法將所得的結果更加正確精密化。

至於用為對比的標準製劑，一國應有專門之機構管理供應之，而為了效價和單位上的統一起見，世界上應有聯合的專門性的組織，俾不至流於紊亂。用為對比用的標準製劑，應具有該類藥物中含有的特殊有效純淨成分，最好在久貯或普通室溫中，不易變質失效，免在對比檢定中的變異。

生物檢定中，雖在實際操作時有的相當靈敏，但大部份說來，其量的精確，遠不如化學分析所得的結果。此固由於動物本身的變異，操作和主觀等

因素使然，更有的在動物實驗所得的結果，與用於臨床之療效，往往大不相同，此中原因實由於當數種有效成份同時存在於一種粗製藥物時，其中某一成分之檢定，實不足以代表整個藥物之療效。最普通的例子是腦垂體後葉製劑，用抗利尿法所得的結果，如果即認為等於子宮收縮成分之效價，顯而易見似屬牽強。

作生物檢定時，有如下四個標準：

- (1) 檢定操作中必須取標準品為鵠的，然後校定被檢品之效價。
- (2) 用於檢定對比之標準品與被檢品，必具同一作用，其所含之成分最好一致。
- (3) 評定一種檢定方法之優劣，胥視 $\frac{s}{b}$ 之值，愈小愈好，
(s 代表其標準誤差， b 代表其劑量反應線之坡度)。
- (4) 檢定操作中，標準品試驗與被檢品試驗時，自須注意一切環境條件之一致，尤須避免，不同性別，不同種別，不同胎動物間，對藥物反應之差異。

單位——所謂單位，正如前面所說，爲了用藥者的安全，用藥劑量的準確，同時要表示一種藥物的作用強度，但是又沒有適宜的化學（或物理）方法來確定其所含有效成分究爲多少，不能用克，毫克或微克來表示該藥有效成分之重量時，便不得不退一步想個另外的辦法，來表明藥物的強度了，這便是採取對生物體所起的某一種程度的變化，在標準情況下，將此種變化與標準品，所發生者相比較而求得的一種量的尺度。所以藥物的單位，往往隨着科學的進步，而起着改變，例如青黴素，最初沿用富勞瑞^①氏所創者，採取具有規定的抑菌作用的一定量（其時只爲一種菌液，既非乾燥物，又非鹽類或結晶體。）稱爲一牛津單位。後來何伯氏^②製出較純之青黴素銨鹽每毫克相當於 240—250 單位，至 1944 年在倫敦國際會議上又規定結晶體之青黴素鈉 G 爲國際標準而以 0.6 微克爲一單位了。

下表爲一般常見的幾種藥物的國際單位：

① 富勞瑞 Florey

② 何伯 Hobby

表 2 標準製劑的單位

標準製劑之名稱	性 狀	相當於一國際單位之毫克數
白 喉 抗 毒 素	乾燥之白喉抗毒素	0.1-79
維 生 素 A	乾燥之 β -紅蘿蔔素	0.0006
維 生 素 D	(1)照射麥角固醇之植物油液	0.1
	(2)維生素 D ₃ 之純結晶	0.000025
胰 島 素	乾純鹽酸胰島素結晶	0.0455
腦垂體後葉製劑	乾燥牛垂體後葉之醋酸浸出物	0.5
洋 地 黃	乾燥紫花洋地黃葉	76
肝 素	乾燥肝素之鈉鹽	0.0077
青 黴 素	青黴素鈉 G	0.006 (0.0005983)
鏈 黴 素	硫酸鏈黴素	0.001282
破傷風抗毒素	乾燥破傷風抗毒素	0.3094
新 腫 凡 納 明	乾燥粉劑	—
氯化筒箭毒鹼	純淨結晶	1

動物——在大多數的生物檢定中，因動物乃一重要的「未知」因子，故其適當之選擇與注意甚關緊要。很多實驗室都挑選具有可靠來源，且能長期供應之動物，因之如預備有專供實驗室用之動物飼養所，則更較方便。至於動物的種類至為繁多（摘要舉述如表 3）。而且每一類中，又可分為數種。就以豚鼠為例，除野生種外，只實驗室中馴養者即有(1)英國種，(2)安哥拉種，(3)秘魯種，(4)阿比西尼亞種等四者。自然每種之外形及對藥物之反應都不一樣了。因之在生物檢定中，可能範圍內專門採用某一種動物為操作對象，則該動物之性能自易掌握，實驗結果之差異，當亦減至極小。

表 3 生物檢定操作中常用的各種生物體

生物體名稱	應用部分	用途舉例
細菌	整體	金黃葡萄球菌用於青黴素之效價檢定，及其他抗生素，血清疫苗之效力測定。
鰾母	整體	在退熱藥效價檢定中，用以使動物體溫升高。
原蟲	整體	抗阿米巴病藥物，抗血吸蟲病藥物之檢定。
水蛭	肌肉	乙醯胆鹼效價的檢定。
條蟲	整體	抗條蟲藥物的檢定。
昆蟲	整體	用於殺蟲劑如 DDT 之檢定。
蝌蚪	整體	用於甲状腺之效價檢定。
青蛙（蟾蜍）	整體，或其離體心臟	檢定各種藥物一半致死量，及離體蛙心檢定腎上腺素。
魚	整體	用於檢定腦垂體中葉素之效價。
小白鼠，大白鼠，田鼠，豚鼠等	整體，或各種離體組織如膈肌，子宮，胃腸等	檢定各種藥物一半致死量及前毒鹼的檢定等。
雞（鴿）	整體或其離體組織	麥角，腦垂體後葉素、睪丸素及洋地黃的檢定。
兔	整體及各種離體組織	熱原的檢定，腎上腺素的檢定。
貓	整體	洋地黃的效價檢定。
狗	整體	腎上腺素的效價檢定。
猴	整體	各種治療劑的檢定，如抗阿米巴病藥物的檢定。

有些檢定動物的性別十分重要，如試驗雌激素時，自不可採用雄性動物。同時，不同性別的動物對藥物的反應也不一致，如雄鼠之生長率較雌者為快，故為避免偏差起見，在檢定維生素 A 之效價時，須同時應用相等數目的雌雄兩種白鼠始可，其他如亞種體重、年齡、也都應該注意到。

毒性試驗——某種藥物，或製劑的毒性試驗。在一般的書上都將它劃歸

● 董恩得：酵母菌及黴菌（載生物學通報 1953, 9）

在普通藥理學的範疇中；但是，實際的應用上，藥物的毒性試驗却是由製造廠家，走到臨床應用時的必經步驟。因之藥物的毒性檢定不僅是藥理學上重要的課題，也是生物檢定中的主要環節。尤其在藥物製造完畢，出廠之前，如不能加以嚴格控制，則在應用過程中很容易發生意外，如有機砷、錫製劑便是如此。

雖然人與動物對藥物之反應不盡相同（如兔對阿託品，狗之對氰化物耐受性特別大），但是當一批藥品出廠，尤其是當一種新的藥物製成時，首先試之於動物，則對該批藥物「毒性」之估價，實有極大的幫助，而且越是試用於多種動物則其安全性愈是可靠。

至於用於動物毒性試驗之投藥途徑，如口服、皮下、肌肉、靜脈注射皆可，但要注意在毒性試驗中，給予動物者應與給予人者相同，始易比較其效應，而且有的藥物，一二次用藥不顯任何症狀，必須繼續服用始呈毒效，故應連次用藥，繼續觀察其生理變化，而記錄動物之尿量改變、生長情況、體溫、血壓、心動電流描記、基礎代謝率、甚至紅白血球計數等。他如藥物對神經系之作用，瞳孔、脈搏、呼吸、氣喘、流涎、嘔吐、排便亦應注意。萬一動物死亡，須注意呼吸與心跳，何者首先停止。動物既已死亡，可實行尸體解剖，取出易被毒物作用之器官，如心腎、肝等組織切片，在顯微鏡下檢查損害之情形。

欲測量藥物之毒性，可直接測定其致死量，最普通的方法是許多價廉易養之小動物（如小白鼠，青蛙，數目自 30 以至 100 不等）分成數組，各組注射以不同的劑量而測定其一半致死量 LD₅₀。所謂致死量多以毫克（藥量）／公斤（體重）表示之，但致死量不僅受體重的影響，同時也受動物的類別、飲食優劣、室溫、性別等因子的左右，不可忽略。

另外測定藥物的療效指數，也可觀察某種藥物的毒性；療效指數的公式為：

$$\frac{\text{LD 50}}{\text{最小療效劑量}}$$

將動物實驗的結果可按馬廷戴耳氏 ① 公式由已知動物的致死量算出成人之劑量，馬氏之計算公式如下：

① 馬廷戴耳氏 Martindale，此公式見於 The Extra Pharmacopoeia 22nd. ed., 1941.

$$DM = \frac{K(M)^{\frac{2}{3}}}{K'(A)^{\frac{2}{3}}} \times DA$$

DM=人用劑量（以克計算）

DA=被試之成年動物劑量（以克計算）

M=人之體重（以克計算）

A=被試動物之體重（以克計算）

K=人之因數

K'=動物因數

各種生物的因數不同，據 Rubber 氏計算所得如下：

人=12.3

兔=12.0—12.9

犬=10.3—11.2

豚鼠=10.5

貓=9.9

其他如統計學的方法，在生物檢定中實佔了極重要的一環，正如前面所談，生物檢定是需要大批動物多次實驗結果的正確分析。僅有着多次雜亂結果的堆積，而沒有系統科學的整理，這工作只能說完成了一半。事實上，在一切科學部門中（尤其是有關生物的科學，自然醫學也在內）所有的研究工作都離不開統計學的幫忙，因之統計學成了作科學工作者的必具常識。

【結語】 本章由應用生物體檢定藥物效價的理由，談到與生物檢定有關的方法分類，操作原則，生物單位，動物，與毒性試驗等，泛作一般性之介紹。其中所謂國際標準品乃指聯合國「世界衛生組織」所規定者，在我新中國衛生當局尚未正式指令前，只可批判的作為參考。

本章主要參考文獻

- (1) 中華人民共和國藥典（1953）。
- (2) 全慈光：雅胆子在現代醫學上的研究（載中華新醫學報1951,5月）
- (3) 陳廷祚：天竺鼠譯名的商榷（載大連衛生研究所彙刊 1951）
- (4) 陳牧：談談生物檢定（載醫藥新知 1951）
- (5) The Extra Pharmacopoeia (22nd. ed. 1941)
- (6) J.H.Gaddum: The Analyst 75: 530 (1950)
- (7) J.H.Gaddum: Pharmacology 3rd. ed. 1948.

二、檢定中應用的單位及計量法

所謂生物檢定，顧名思義，便知道是利用各種生物體的反應（包括量的與質的），來表達藥物的效價，在這個過程中，不僅要掌握了正確的操作方法，而且更要緊的是掌握操作中生物體的變異性。因此常涉及到許多必要的計量方法，在這一章中便作個初步的介紹。

（一）計量單位

計量任何事物，必有單位為測度之準繩。如計長以尺，計重以斤，計時間則有分秒……。檢定藥物的效價自不例外。因此最早有人提議用“單位”來表示某種藥物的效價。而以能殺死一克青蛙（體重）作為洋地黃的一個單位，並名之為“洋地黃蛙單位”。但是顯而易見，這個憑空而來無所依據的藥物單位是毫無意義的，請看下面這張表中（表 4），雖只應用了一種洋地黃製劑（而且是國際標準的製劑）；而檢定結果所示每克製劑自含 1310 至 3300 青蛙單位。相差竟至一倍半。因此這個辦法顯然對我們毫無用處。

既然如上所述，由於生物本身的變異，及其他因子的不能控制（如不同的操作習慣，氣候等等），那麼，我們怎樣才能很穩當的掌握藥物的效價計量呢？！

畢竟人類的智慧，克服了一切困難，當兩種作用相似的藥物一起在生物體上比較時，那麼很容易測定它們何者作用強，何者作用弱、而不受外在的、內在的許多因子的影響了。即便操作者是許多不同的人，但所得的結果却無甚懸殊，這便是在生物檢定中為什麼採用標準製劑的最基本的道理。

自埃利希氏^①開始採用標準製劑，作為白喉抗毒素的效價測定以來，目前在生物檢定工作中已有了 40 種以上標準的製劑。各國政府多設有專門機構製發本國的標準製劑。

① 埃利希 P. Ehrlich