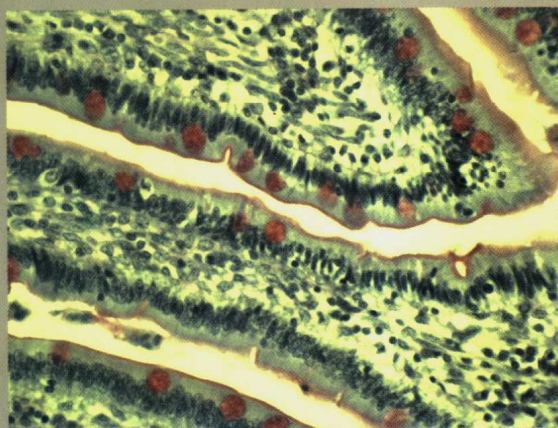




華夏英才基金學術文庫

王宁生 主编

中药毒性 与临床前评价



科学出版社
www.sciencep.com



华夏英才基金学术文库

中药毒性与临床前评价

主	编	王宁生		
副	主	编	宓穗卿	王培训
编	委	徐勤	刘启德	周联
		莫传伟	潘华新	陈乾生

科学出版社

北京

内 容 简 介

本书结合国内外毒理学的研究成果和国家药品安全性评价重点实验室的具体工作,介绍了毒理学的基本概念、研究手段与方法以及新进展。目的是为了保障病人用药安全,推动中药现代化的发展,促进新药研究与开发。本书内容上共分7章,分别为概述、中药毒性研究、体外试验在毒理研究中的应用等。

本书可供中药毒性研究者阅读参考。

图书在版编目(CIP)数据

中药毒性与临床前评价/王宁生主编. —北京:科学出版社, 2004.3

ISBN 7-03-012959-8

I. 中… II. 王… III. 中草药-毒理学:临床医学
IV. R285.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2004) 第 012604 号

责任编辑:高小琪 郭海燕 曹丽英 / 责任校对:刘小梅

责任印制:刘士平 / 封面设计:卢秋红

版权所有,违者必究。未经本社许可,数字图书馆不得使用

科学出版社 出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

源海印刷有限责任公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2004年3月第 一 版 开本:B5 720×1000

2004年3月第一次印刷 印张:23 1/2 插页:2

印数:1-2 000 字数:455 000

定价:78.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈环伟〉)

序 一

纵观数千年药学发展史,我国医药界的科学家们为了人类的生存,在与疾病作斗争中,发现了中药是最有效的治疗措施。随着科学技术的发展,我国的科学家们已将古老的中药去粗取精,研究了中药的药理学和药效学,开发出了一批新产品,如麻黄碱、青蒿素、紫杉醇、三尖杉碱、丹参素、银杏素、灵芝多糖和大蒜素等。

尽管中药的毒性在本草书籍中都有明确的记载,如中药分上、中、下三品,反映了中药的毒性和严重程度。但是,多年来对中药毒性的研究却很少,临床上中药不良事件又不断发生,但能得出肯定的结论并不多。

为了保障病人用药安全,编辑出版《中药毒性和临床前评价》一书是一项有意义的探索。本书的出版对推动中药现代化的发展,促进我国新药研究与开发,将起到很重要的作用。希望热心中药事业发展的同道们,贯彻“双百”方针,吸取生物医药研究的先进理论和技术,发掘中药的药效,研究中药的毒性。这既是防病治病的需要,更是时代赋予我们的使命。

宋书元

2003年11月

序 二

药效和毒性是构成一个药物使用价值的两个侧面,缺一不可。

几千年来,我们的祖先在与疾病做斗争的长期实践中,用“尝百草”自身实践的方式评价药效和毒性,随着实践的不断丰富和发展,根据药物毒性的强弱,将药物分为“上、中、下”三品,为此而付出了惨重的代价,为中华民族的生存繁衍做出了巨大的贡献,开创了中药毒理学的雏形阶段。这是我们祖先留下的宝贵财富。

随着社会经济、实验生物学和现代科学技术的发展,对中药毒性的初期评价,已逐渐由人类自身“尝百草”的方式,发展到先用实验动物,从整体到多层次的毒理学研究,根据动物身上所获得的毒性反应信息和具体药物的特点,通过精心的设计,再在人体上作最后的评价。这样,明显地降低了人类本身为评价药物的安全性而付出的代价。

《中药毒性与临床前评价》一书,论述了毒理学的基本概念、列举了对主要脏器组织产生毒性及其毒理作用机制的中药、靶器官毒性的评价技术、毒理学评价技术的进展及临床前毒性评价的原则等。这类在中医药继承和发展的思想指导下,以中药为论述主体的毒理学书籍目前实属少见。有幸先睹,实属为快。它对中药的现代化将起到积极的推动作用。这是编者多年来在中医药战线上勤恳耕耘、积极进取的研究成果。值此书出版之际,预祝编著者在中药走向世界的道路上做出更大的贡献。是为序。

李培忠

2003 年月 11 日

前 言

与化学药相比,对中药产生的毒性(副)作用在相当长的一段时间内未得到足够的注意和重视。近年来随着中药临床应用日益广泛和“世界化”,大剂量长疗程的用药增多,以及中药不同剂型的出现,以往认为无毒甚至作为保健品的中药,也表现出毒性反应。特别是 20 世纪 90 年代初,含马兜铃酸类中药引起肾功能衰竭、膀胱癌等不断见诸世界各地报道,中药的毒性引起了广泛的关注和重视。

药物的毒性检测 and 安全性评价是研究、开发药品(新药)的一个重要环节;毒性的检测和评价可采用体内、体外等方法进行,但对所用动物的选择、模型的设立、试(实)验的设计、检测技术、风险评价都有相应的要求。本书结合国内外毒理学的研究成果(包括体外替代试验的研究进展),对毒理学试验方法和终点评判进行了介绍,并探讨中药致突变、致癌及遗传毒性风险的评价。同时结合国家药品(中药)安全性评价重点实验室(广州)的具体研究工作,对中药安全性评价中应注意的问题作了介绍,也包括了农药残留与重金属污染对中药安全性评价的影响。本书介绍了毒理学的基本概念、研究手段与方法以及一些新进展。同时,也注意评述了中药毒理学研究及安全性评价的实际问题,目的是供同道们在中药毒性研究时参考。

编者

2003 年 12 月

目 录

序一

序二

前言

第一章 概述	(1)
第一节 毒理学的基本概念和原理	(1)
一、毒物、毒性与中毒	(1)
二、毒性作用种类	(3)
三、毒性反应特征	(5)
四、剂量-效应关系	(6)
五、毒性参数	(7)
第二节 毒理学研究中的一些新进展	(9)
一、口服 LD ₅₀ 实验的替代方法	(9)
二、“3Rs” 试验	(12)
三、神经毒性评价	(14)
四、中枢神经系统功能的细胞模型	(16)
五、眼刺激性的体外试验评价	(17)
六、皮肤刺激性的体外试验评价	(18)
第三节 毒物代谢动力学	(20)
一、房室模型	(21)
二、生理模型	(26)
三、参数的确定和影响参数的因素	(28)
第四节 药物毒性与药物安全性评价	(29)
一、药物安全评价中的动物实验	(31)
二、毒性试验的终点和观察指标	(33)
三、体外毒性试验与药物安全评价	(35)
四、体内、体外试验数据归纳、比较和评价	(36)
第二章 中药毒性研究	(40)
第一节 肝脏毒性及安全性评价	(40)

一、肝脏组织学及生理学基础	(40)
二、肝毒性反应及其机制	(41)
三、中药肝脏毒性的评价	(45)
第二节 肾脏毒性及安全性评价	(63)
一、组织学及生理学基础	(63)
二、肾毒性反应及机制	(65)
三、中药对肾脏的毒性及评价	(71)
第三节 神经系统毒性及安全性评价	(84)
一、组织学及生理学基础	(84)
二、神经系统的毒性反应及机制	(86)
三、中药的神经毒性及安全性评价	(89)
第四节 造血系统毒性及安全性评价	(96)
一、组织学及生理学基础	(96)
二、造血系统毒性反应及机制	(100)
三、中药对造血系统的毒性及评价	(105)
第五节 心血管毒性及安全评价	(112)
一、病理生理基础	(112)
二、心血管毒性反应及机制	(114)
三、中药对心血管的毒性及评价	(117)
第六节 免疫毒性及安全性评价	(122)
一、免疫系统组织学及生理学基础	(122)
二、免疫毒性反应及机制	(127)
三、免疫毒性及评价方法	(131)
第七节 生殖毒理及安全性评价	(147)
一、组织学及生理学基础	(147)
二、生殖系统毒性反应及机制	(149)
三、中药生殖毒性的评价	(151)
第八节 中药内分泌毒性及其评价	(169)
一、内分泌系统组织学及生理学基础	(169)
二、内分泌毒性反应及机制	(171)
三、内分泌毒性的评价	(175)
第九节 呼吸系统毒性及安全性评价	(178)
一、呼吸系统组织学及生理学基础	(178)
二、呼吸系统毒性反应及机制	(181)
三、中药的呼吸系统毒性及安全性评价	(183)

第十节 农药残留及重金属的毒性	(189)
一、环境污染与中药的毒性	(189)
二、残留农药的毒性	(192)
三、重金属的毒性	(193)
四、含有重金属的中成药	(196)
五、黄曲霉毒素	(197)
第三章 体外试验在毒理研究中的应用	(201)
第一节 细胞及细胞生物学实验基础	(201)
一、体外培养细胞生物学基础	(201)
二、细胞生物学基本实验技术	(208)
第二节 体外毒性试验方法及终点评价	(224)
一、体外试验	(225)
二、肝脏毒性的体外试验的评价方法	(226)
三、呼吸系统毒性的体外评价方法	(228)
四、神经系统毒性的体外评价方法	(229)
五、心脏毒性的体外评价方法	(231)
六、常用的体外毒性试验模型和毒性评判终点指标	(234)
七、体外试验可信性评价	(235)
八、体外试验特点及其局限性	(236)
第四章 中药特殊毒性风险评价	(238)
第一节 中药致癌性风险评价	(238)
一、癌症及致癌物的定义	(238)
二、遗传毒性致癌物	(238)
三、非遗传毒性致癌物	(240)
四、中药的致癌作用	(241)
五、致癌物的代谢	(244)
六、化学致癌物过程	(247)
七、细胞凋亡与肿瘤发生	(248)
八、致癌试验及风险评价	(248)
第二节 中药致突变风险评价	(251)
一、DNA 损伤	(252)
二、DNA 修复	(253)
三、致突变物	(254)
四、致突变风险评价及实验	(259)
第五章 毒理病理学检查	(261)

第一节 检查、取材及 HE 染色	(261)
一、剖验方法	(261)
二、病变记录	(266)
三、脏器称量	(267)
四、固定	(268)
五、取材	(268)
六、水洗、脱水、浸蜡、包埋	(269)
七、切片	(270)
八、染色	(271)
第二节 常见靶器官损伤	(274)
一、心	(274)
二、肝	(275)
三、脾	(278)
四、肺及支气管	(280)
五、肾	(280)
六、胰腺	(282)
七、睾丸	(283)
八、卵巢	(284)
九、子宫	(284)
十、脑	(285)
十一、垂体	(285)
十二、肾上腺	(286)
第三节 细胞超微结构的损伤	(286)
一、正常细胞超微结构	(287)
二、常见超微结构损伤	(290)
第四节 常用特殊染色方法	(292)
一、胶原纤维	(292)
二、中性脂肪	(294)
三、淀粉	(295)
四、糖原	(296)
五、核酸	(297)
六、尼氏体	(299)
七、神经髓鞘	(300)
第六章 生物统计学在中药毒理实验中的应用	(302)
第一节 毒理学实验设计的原理和方法	(302)

一、实验研究的三大要素	(302)
二、实验设计的统计学原则	(305)
三、毒理学研究常用的几种实验设计方法	(309)
第二节 常规毒理学试验资料推荐的统计分析方法	(311)
第三节 毒理学研究资料的统计分析方法	(314)
一、毒理学研究的数据类型	(314)
二、毒理学研究常用的统计分析方法	(316)
第四节 SAS 随机化分组在毒理学试验中的应用	(329)
一、完全随机化设计应用实例	(330)
二、随机区组设计	(331)
三、拉丁方设计	(332)
四、系统分组资料设计	(332)
五、裂区或分割设计	(333)
六、蒙特卡罗方法应用简介	(334)
第七章 犬、猴、猪在毒理学研究中的应用	(336)
第一节 比格犬在药物毒理学研究中的应用	(336)
一、比格犬在长期毒性试验中的应用	(336)
二、比格犬的实验操作技术	(339)
三、犬的生物学特性	(344)
四、比格犬的饲养管理	(345)
五、比格犬疾病的控制及免疫程序	(345)
六、比格犬的血液学及血液生化的参考数	(347)
第二节 猴在药物毒理研究中的应用	(348)
一、药物毒理学试验过程中对猴类品种的选择	(349)
二、猴类在药物的药效及安全性评价方面的应用	(350)
三、猴类的饲养环境与设施要求	(351)
四、猴类的检疫	(351)
五、猴类的饲料和饲养	(352)
六、消毒程序与方法	(352)
七、猴类在试验过程中异常情况的处理	(353)
八、猴类的实验技术	(353)
九、猴在动物实验中的福利	(355)
十、食蟹猴的血液学及血液生化的测定值	(356)
十一、恒河猴的血液学测定值	(358)
第三节 小型猪在生物学研究中的应用	(358)
一、猪的生物学特性	(358)

二、国内外小型猪的主要品种	(359)
三、小型猪在医学实验中的应用	(361)

附图 常用动物病理组织切片

第一章 概 述

第一节 毒理学的基本概念和原理

毒理学(toxicology)是一门从生物医学角度研究外源性化合物对生物体的损害作用及其机制的学科。外源性化合物是指与生物体接触或进入生物体的各种具有生物活性的物质。随着毒理学研究内容不断扩大,学科的发展和渗透,毒理学又形成了分支学科和交叉学科,如药物毒理学、食品毒理学、临床毒理学、分析毒理学、工业毒理学、环境毒理学、生态毒理学、管理毒理学等。

本书涉及的外源性化合物多指药物(中药、生物药或化学药),因此所述的内容属药物毒理学范畴。

药理学和药物毒理学两者既有共性,又各有其特性。药理学是研究药物对生物体的(药理)作用,从而发挥其在预防、诊断、治疗疾病中的效能;药物毒理学则是研究药物在一定条件下对生物体的有害作用。

药理学和毒理学有相同的理论基础和研究方法,其差别是药理学着重于研究药物的药理作用和有效剂量;毒理学则着重于研究药物对人(生物体)的危害及防止发生危害的安全剂量。

一、毒物、毒性与中毒

毒物:在一定的条件下,以较小剂量给予时,引起生物体功能性或器质性损害的化学物质。药物过量给予,也可能会引起毒效应。毒物与非毒物间不存在绝对的界限,只是以引起中毒的剂量大小加以区别。

毒性:化学物质引起生物体损害的能力,其产生的损害总称为毒性作用或毒效应;毒性的大小以损害的性质和程度表现出来。

中毒:生物体受到毒物作用引起功能性或器质性改变后出现的疾病状态,按病变发生的快慢,分为急性中毒和慢性中毒。

毒理试验

毒理试验是以观察、测定、了解药物(外源性化合物)对生物体(机体)引起的损

害(病变)、发病机制以及对机体全身的影响为目的而设计的试验。对毒性作用的观察有整体(体内试验 in vivo)、器官(组织)、细胞(或亚细胞)及分子水平(体外试验 in vitro)等方法。

1. 体内试验

体内试验也称为整体动物试验。控制、施加不同的实验条件,可测定多种不同类型的毒性作用。实验多采用哺乳动物,例如大鼠、小鼠、豚鼠、家兔、仓鼠、狗和猴等。在特殊需要情况下,也有采用鱼类或其他水生生物、鸟类、昆虫等。检测外源化合物的一般毒性,多在整体动物进行,例如急性毒性试验等,又称单次给药毒性试验(single dose toxicity study);亚急性毒性试验、亚慢性毒性试验和慢性(长期)毒性试验又称反复给药毒性试验(repeat dose toxicity study)。哺乳动物体内试验是毒理学的基本研究方法,其结果原则上可外推到人。

2. 体外试验

体外试验是利用离体器官、培养的细胞或细胞器进行毒理学研究,多用于外源性化合物对机体急性毒性作用的初步筛选、作用机制和代谢转化过程的深入观察研究。但体外试验系统缺乏整体的毒物动力学过程,并且难以研究外源性化合物的慢性毒作用。

(1) 离体器官 利用器官灌流技术将特定的液体通过血管流经离体的脏器(肝脏、肾脏、肺、脑等),借此可使离体脏器在一定时间内保持生活状态,并与受试化合物接触,观察脏器出现有害作用,以及受试化合物在脏器中可能的代谢情况。

(2) 细胞 利用从动物或人的脏器新分离的细胞(原代细胞, primary cell)或经传代培养的细胞,如细胞株(cell strain)及细胞系(cell line)。

(3) 细胞器(organelle) 将细胞制作匀浆,离心分离成不同的细胞器或组分,例如,线粒体、微粒体、核等,用于实验。

体内试验和体外试验各有其优点和局限性,应根据实验研究的目的要求,采用最适当的方法,并且互相验证。

3. 一般毒性试验

不同种属的动物及不同给药途径进行的急性毒性试验和反复多次给药的长期毒性试验,都属一般毒性试验。一般毒性试验观察的毒性指标具有广(谱)泛性和不确定性,如生理学、血液学、血液生化及病理形态等方面的综合指标。急性毒性试验通常给药一次,以死亡为毒性终点(毒性观察指标)。

4. 特殊毒性试验

观察、测定某种或某些特定毒性反应的试验,其毒性指标是明确的,如生殖毒性、遗传毒性、依赖性试验、过敏性试验、局部刺激试验、光敏试验、免疫毒性试验等。

5. 毒理病理学

从形态学研究实验动物给予外界因素后引起的器官、组织、细胞及亚细胞形态结构的变化,确定损伤的靶器官、靶部位形态变化的性质、程度及其变化过程和归转,是毒理(性)学的基本组成部分,也是临床前安全性评价工作中的重要依据。

二、毒性作用种类

(一) 按毒性反应分类

1. 过敏(变态)反应

药物或其代谢物(作为抗原或半抗原)刺激机体产生抗体或(和)致敏淋巴细胞,当再次用药时,药物与相应的抗体或(和)致敏淋巴细胞发生特异性结合导致过敏(变态)反应(allergic reaction)。过敏反应中,抗原抗体的结合,多数是使细胞释放药理活性物质,抗原抗体复合物可激活补体,引发细胞或组织损伤。

特点:变态反应与已知的药物的药理特性无关,反应(效应)与剂量无线性关系。

2. 特异质反应

特异体质反应(idiosyncratic reaction)通常是指机体对外源化合物的一种遗传性异常反应。例如,接受一个标准治疗剂量肌肉松弛剂氯化琥珀胆碱(succinylcholine chloride),有些病人由于缺乏血清胆碱酯酶(cholinesterase),可出现较长时间的肌肉松弛,甚至呼吸暂停。又如,有人口服常用剂量的板蓝根糖浆后出现溶血,这些与细胞膜内葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺陷有关。

3. 光敏感反应

光敏感反应有两种类型,光毒性和光变应性。注射或内服光敏性药物引发的皮肤炎症称为光敏感性药物反应,外用药引发的称为光接触性皮炎。

光性皮炎,通常在首次内服或外用光敏感性药物之后,皮肤对日光的敏感性增加,当接受一定波长和足够强度的光照射后,经2~6h便可发生,反应与免疫机

制无关。

光变应性皮炎是光敏性物质受日光照射后引发的变应性反应,发病过程与其他类型的迟发性变态反应相同,第一次发生反应有一定的潜伏期。光变态反应是当给予光变性药物经光线照射后,药物转化为具有光抗原性物质,与体内蛋白结合为完全抗原,引起由细胞中介的迟发性变态反应。这种反应多在应用光变性药物并接受相应波长和强度紫外线的照射后,在24~28h内发生,皮痒不仅仅限于光照部位,也可见未照射部位。一般引发光变态反应所需的药量较小,剂量过大时也可引起光毒反应。

4. 局部毒性

药物(外源性化合物)在与机体第一接触部位产生的毒性(损害)作用,如吸入的氯气与肺接触引起组织的损伤与水肿。

5. 全身毒性

药物(外源性化合物)进入机体经吸收和分布到达靶器官或全身,产生的毒性作用。有些化合物既产生局部毒性又有全身毒性。如四乙(基)铅[tetraethyl lead, $\text{Pb}(\text{C}_2\text{H}_5)_4$]通过皮肤吸收,分布到全身,对中枢神经系统和其他器官产生毒性。局部作用明显时,也可间接地表现出全身(系统)毒性,如严重的酸烧伤,尽管酸未到达肾脏,也会出现间接的系统毒性——肾损伤。

引起全身毒性作用的化合物对机体各器官损伤的程度是不一样的,受损严重的只是一或两个器官,即所谓的靶器官。有时靶器官不一定是引起毒性化合物浓度最高的部位,如铅沉积在骨中,但毒性作用表现在软组织和脑。

6. 可逆和(或)不可逆毒性损伤

药物(外源性化合物)进入机体产生毒性作用的可逆与否,主要取决于受损病理组织修复和再生的能力及程度,如肝脏细胞和肠上皮细胞有较强的再生能力,因此引起的毒性损伤通常是可逆的;中枢神经系统的细胞不能分化、再生,因此引起的损伤一般为不可逆的。某些化合物能引起的致癌、致突变也可认为是不可逆的损伤。新近研究认为,马兜铃酸引起的肾损害也是一种不可逆的毒性损伤。

7. 即刻和(或)滞后毒性

一次给药后在短时间($<24\text{h}$)出现的毒性反应称即刻毒作用(immediate toxic effect);多次给药后,经一段时间才出现的毒性反应,称滞后毒性作用(delayed toxic effect)。

(二) 按作用靶器官分类

按作用靶器官分类分为:造血系统、呼吸系统、心血管系统、神经系统、内分泌系统、肝脏、肾脏、免疫、生殖等毒性(详见各章节)。

三、毒性反应特征

(一) 选择毒性

在接触(暴露)情况(条件)完全相同的情况下,化学物质(工业毒物、药品、农药等)对生物体表现出来的毒性(反应)的差异称为选择毒性。生物体指微生物、动物、人类(正常或病人),或同一机体的不同器官、组织、细胞等。

药物的选择毒性(selective toxicity)主要是由于其在生物体内的代谢途径和生化转运机制的不同(差异)造成。同一生物体的不同组织或细胞,也会因药物积蓄程度的不同而表现出毒性的“靶器官”。

外源性化合物(毒物)对器官、组织直接发挥毒作用的部位称为靶器官或靶组织,出现毒性效应的器官称为效应器官。但效应器官不一定是靶器官,如马钱子碱中毒可引起抽搐和惊厥,靶器官是中枢神经系统,效应器官是肌肉;且靶器官(组织)也不一定是该外源性化合物浓度最高的部位。如铅主要富集在骨中,但毒性则表现在造血系统、神经系统;DDT 在脂肪中的浓度最高,但并不对脂肪组织产生毒作用。

产生选择毒性的原因:

药物(化合物)对机体引起的毒性可分为:组织结构和细胞外的毒性;器官的特有毒性,即对器官、细胞功能和结构的损伤;基本细胞毒性,即对所有细胞共同结构和功能的损伤。

机体细胞具有两方面的特性:①结构和功能为所有细胞共有的,即所谓的基本的细胞功能。②细胞、组织、器官所特有的结构和功能,称为器官(组织)的特有功能。

细胞的基本功能支撑着细胞的特有功能,而化合物对(细胞的)基本功能的毒性有可能影响到器官特有功能。

药物在体内的生物转化和排泄的差别,致使药物在体内的分布、蓄积不同,也是产生选择毒性的原因之一。