

商品洋地黄毒甙生物檢定中豚鼠法 与鴿法*測得效价的比較**

張庆璽 赵雅灵 徐玉均

(衛生部藥品檢驗所生物測定室)

洋地黄的生物檢定在中国藥典 1953 年版^[1]采用了豚鼠法。鴿法为美国藥典第 15 版^[2](1955)的法定檢驗方法。英国藥典 1953 年版^[3]同时收載有四种方法：蛙法，猫法，豚鼠法和鴿法。关于洋地黄生物檢定中不同方法的比較，过去曾有不少人进行过研究^[4-7]。但对于鴿法与豚鼠法之間的差异，尚未曾見有报告。为便于因地制宜，解决洋地黄生物檢定的动物来源問題，在作者等工作的实验室内自 1954 年对各种洋地黄制剂进行了豚鼠法与鴿法的比較試驗。在实验中發現洋地黄毒甙注射液用两种方法測定的結果相差很大。但对洋地黄粉末、片剂或酞剂，二种方法測定的結果是相符的。为进一步探討这个差异的存在，我們进行了 6 种洋地黄粉和 7 种洋地黄毒甙的研究。

实 驗

(一)实验方法

豚鼠法：参照中国藥典(1953)洋地黄生物檢定法进行。豚鼠，不拘性别，350—450 克。腹腔注射 25% 烏拉坦溶液 6 毫升/千克体重。麻醉后，自頸静脉緩緩連續注入洋地黄酞稀釋液或洋地黄毒甙溶液的稀釋液，开始时，一次注入 0.5 毫升，以后每分鐘 0.2 毫升，直至心脏跳动停止。根据心跳停止所需要的藥量，分別求出标准組与样品組的平均致死量，并計算效价。

鴿法：参照 Braun 与 Lusky 氏方法^[8]进行，但改用連續注射。鴿，275—400 克。每組内动物体重相差不超过 30%；組間的平均体重差异不超过小值的 15%。实验前 18—22 小时停止供給食物，但仍給予飲水。实验时，用适量乙醚麻醉，自一側翼静脉插入一 23 号弯鈍針头，并与滴定管相連，緩緩連續注入洋地黄酞稀釋液或洋地黄毒甙溶

* 鴿法指洋地黄最小致死量測定法，并非鴿嘔吐法。

** 1956 年 12 月 14 日收到。

液的稀釋液,开始时,一次注入 0.5 毫升,以后每分鐘 0.1 毫升,直至心脏跳动停止。

(二) 实验材料

1. 国际标准品洋地黄粉(1949)(效价为 76 毫克相当于一个洋地黄国际单位)作为实验的标准品。

2. 国产洋地黄粉 6 种(詳見表 1),均系紫花洋地黄叶粉。

3. 国产洋地黄毒甙 2 种(同上)。

4. 进口洋地黄毒甙 5 种(同上)。

洋地黄酞标准品稀釋液的配制,精密称取国际标准品洋地黄粉适量(約 2.5 克),置棕色玻璃瓶中,精密加入 70% 醇,每一国际单位加 1 毫升,密塞,置电动振搖器上,連續振搖 4 小时¹⁾,取下,靜置,滤过,所得酞剂每 1 毫升与一个洋地黄国际单位相当。实验时,用 0.9% 氯化鈉溶液稀釋,使千克致死量約与稀釋液 15 毫升相近。

样品稀釋液的配制:精密称取洋地黄粉,照洋地黄酞标准品制备方法制成 10% 酞剂,每样品 1 克加 70% 醇 10 毫升。实验时,再用 0.9% 氯化鈉溶液同上述要求稀釋。如样品为洋地黄毒甙,則用甘油 3 份,醇 6 份与蒸餾水 1 份制成的混合液溶解,使每 1 毫升与洋地黄毒甙 1 毫克相当。实验时,同上稀釋。

結 果 及 討 論

实验結果如表 1。

从实验結果中可以看出:洋地黄粉用鴿法测得的最小致死量平均約为豚鼠法的 60% (0.56—0.64);当与同一种洋地黄标准品比較,按效价計算,則两种方法测得的结果是比較一致的。而洋地黄毒甙用鴿法求得的最小致死量約为豚鼠法的 35% (0.29—0.56);若按效价計算,則鴿法所得結果平均为豚鼠法的 203% (1.20—2.36)。在表 1 中洋地黄毒甙效价比值的参差亦較大,尤其样品 III 最为显著;表示各批商品洋地黄毒甙的成分之間差別較大。此結果說明,由于非同种动物对同一藥物的耐受性不同,其最小致死量之間是会有一定差异的;但在藥物的成分在一定范围的恒定情况下,由此种差异而造成的效价差别,当与同一适当的标准品比較計算时,可相对地消除;这是生物檢定的实验設計中所以必須采用标准品的理由之一。关于生物檢定中,样品与所用标准品的成分和性質应该一致的問題,早已被从事于生物檢定的工作者強調过。因此,我們考虑,洋地黄毒甙生物檢定时,由于采用洋地黄粉作为标准品,用非同种动物得出相异的結果,显然是与样品和标准品在成分上的不一致有关。

洋地黄毒甙是由紫花洋地黄配糖体 A (purpurea glycoside A) 酵解后的产物,其

表 1. 几种洋地黄粉与洋地黄毒甙用鷓法和豚鼠法生物测定的結果

样	品	实验动物数		每千克最小致死量(毫克)±标准誤		最小致死量比值		效价*(国际单位/克)		效价比值 (鷓/豚鼠)
		豚鼠法	鷓法	豚鼠法	鷓法	豚鼠法	鷓法	豚鼠法	鷓法	
洋地黄粉	I 利华 1 号	6	5	127±7.27	81±1.69	0.64	11.18	11.85	1.06	
	II 利华 2 号	6	6	128±4.00	79±1.66	0.62	11.09	12.15	1.09	
	III 大同 1 号	5	6	167±5.90	99±3.69	0.59	8.50	9.69	1.14	
	IV 杭州	5	6	222±11.70	132±4.49	0.59	6.39	7.27	1.14	
	V 大同 2 号	5	5	127±3.79	75±2.81	0.59	11.18	12.80	1.14	
	VI 新民	6	6	114±7.51	64±2.36	0.56	12.47	15.00	1.20	
洋地黄毒甙	I 浙江 1 号	10	10	2.049±0.062	0.676±0.032	0.33	693	1420	2.05	
	II 浙江 2 号	8	10	1.788±0.148	0.576±0.022	0.32	794	1666	2.10	
	III Usines Chimiques Laboratories 1 号	5	6	1.117±0.073	0.628±0.025	0.56	1271	1529	1.20	
	IV 同上 2 号	6	6	1.963±0.069	0.666±0.029	0.34	723	1441	1.99	
	V Biddle Sawyer & Co. 1 号	7	6	2.108±0.130 [†]	0.642±0.013	0.31	674	1474	2.19	
	VI 同上 2 号	5	6	1.699±0.121 [†]	0.486±0.011	0.29	836	1975	2.36	
	VII E. Merck	5	6	1.786±0.082 [†]	0.514±0.019	0.29	795	1868	2.35	
国际标准品洋地黄粉 (1949)		21	14	108±2.77 [†]	73±1.71	0.67				

* 豚鼠法测得标准品最小致死量按国际单位計为： $\frac{108}{76} = 1.42$ 国际单位/千克体重。

鷓法测得标准品最小致死量按国际单位計为： $\frac{73}{76} = 0.96$ 国际单位/千克体重。

豚鼠法的结果中有 + 号标記者为引用本实验室 1953 年的測定結果。

分子结构比洋地黄酊中所含的强心性配糖体为小。虽然它們在藥理作用的性質上是相同的，但由于它們对心脏直接兴奋作用有快慢的不同，因而在心脏毒性上有一定差别，尤其对非同种动物心脏的毒性。表 1 中几种商品洋地黄毒甙之間的效价差别与彼此在純度上和成分上的差异是有关系的。美国藥典第 15 版^[9]規定，商品洋地黄毒甙的純度按洋地黄毒甙(C₄₁H₆₄O₁₃)計算不得少于 90%。商品洋地黄毒甙一般多非洋地黄毒甙純

品，尚含有洋地黄中的其他配糖体，其中主要是羟基洋地黄毒甙 (Gitoxin, $C_{41}H_{64}O_{14}$)。根据 Banes 与 Carol 二氏^[10]的研究，羟基洋地黄毒甙之毒性用鸽法测定的结果约为美国药典洋地黄毒甙对照标准品的 40—45%。洋地黄毒甙与羟基洋地黄毒甙在同一商品洋地黄毒甙中存在的比例关系，二者毒性上的差别以及对生物效价的影响，尚需要进一步地探讨。

在过去文献中，Gold 氏等^[11]的研究曾指出，用猫法测定洋地黄制剂的效价与临床治疗剂量之间有着平行的关系。Braun 与 Lusky 二氏的研究曾指出，鸽法是一种比猫法更实用、更精密的方法，并证明用鸽法与猫法测得的结果是相符的。根据我们实验室的经验，鸽法的精密密度一般是比豚鼠法为高，鸽较豚鼠也比较经济。有的药典^[12]曾规定用猫法进行洋地黄毒甙的测定，并用洋地黄毒甙作为标准品。假如用不同种动物测定所致的差异，可由于采用一定纯度的洋地黄毒甙标准品而相对地消除时，则为了克服动物来源的困难而教法并列还是可以考虑的。从我们所进行的几种商品洋地黄毒甙的生物检定结果看来，中国药典(1953)和英国副药典(1954)^[12]关于洋地黄毒甙的效价规定均依洋地黄粉标准品计算是不适当的，尤其不规定采用某一种动物方法时(如英国副药典 1954)，则样品与标准品在成分上的不同会使各种方法生物检定的结果不一致，并可能引起临床使用上发生困难。目前在洋地黄毒甙生物检定工作中，如果不按一种规定的方法进行，而任意选择动物代替时，也至少会造成此项药物效价的混乱，这是值得重视的一个问题。

提 要

1. 本文用豚鼠法和鸽法比较了 6 种国产洋地黄粉、2 种国产洋地黄毒甙和 5 种进口洋地黄毒甙的生物效价，用洋地黄粉作标准品。

2. 洋地黄粉用两种方法测定的结果比较接近。洋地黄毒甙相差达一倍，鸽法的结果较高，此种较大的差异，显然是与样品和标准品在成分上的不同有关。

3. 本文指出英国副药典(1954)对洋地黄毒甙的检验，四种方法并列，并以洋地黄叶粉为标准品是有问题的。作者考虑到如果用一定纯度的洋地黄毒甙作为生物检定的标准品时，各法可以并用，否则应按一种规定的方法进行。

本室張淑坤、赵秀文、周海鈞三位同志曾参与本文一部分实验工作。

参 考 文 献

- [1] 中华人民共和国药典，1953年版，附录45页。
- [2] *Pharmacopeta of the United States of America*, XV (1955), 212.

- [3] *British Pharmacopeia*, 1953, 830.
- [4] Haag, H. B. & Woodley, J. D., *J. Pharmacol.*, 1934, **51**, 360.
- [5] Braun, H. A. & Lusky, L. M., *ibid.*, 1948, **93**, 81.
- [6] Lavallée, A. & Allmark, M. G., *J. Amer. Pharm. Ass., Sci. ed.*, 1949, **38**, 45.
- [7] Kikuji Tokita & Yoshinori, Aramaki, *Folia Pharmacol. Japan.*, 1952, **48**, 309.
- [8] 徐玉均, 李仁, 藥學學報, 1953, **1**, 43.
- [9] *Pharmacopeia of the United States of America*, XV (1955), 217.
- [10] Banes, D. & Carol, J., *J. Amer. Pharm. Ass., Sci. ed.*, 1953, **42**, 674.
- [11] Gold, H., et al., *J. Pharmacol.*, 1941, **73**, 212.
- [12] *Pharmacopeia of the United States of America*, XIII (1947), 175.
- [13] *Brittist Pharmaceutical Codex*, 1954, 251.

A COMPARISON OF RESULTS ESTIMATED BY GUINEA PIG METHOD AND PIGEON METHOD IN THE BIOASSAY OF COMMERCIAL DIGITOXIN

CHANG CHING-HSI, CHAO YA-LING AND HSU YU-CHUN
(From the Bioassay Department, Central Bureau of Drug Analysis, Peking)

ABSTRACT

Since 1954 in authors' laboratory, various digitalis preparations, including digitalis leaves, tablets and tinctures and digitoxin and its injections, were assayed by both guineapig method and pigeon (lethal dose) method, using standardized digitalis powder as reference standard. It was found that results of digitalis leaf preparations obtained by guinea pig method and those by pigeon method were reasonably agreeable; while the results of digitoxin preparations obtained by guinea pig method were always significantly lower than those obtained by pigeon method. In this paper, these facts were again shown, when 6 digitalis leaf preparations and 7 commercial digitoxin preparations were investigated. In digitoxin preparations, the potency estimated by pigeon method could be 2.36 times greater than that estimated by guinea pig method. The authors ascribed the difference to the inadequate standard preparation employed in the assay, as digitalis purpurea consisting of chiefly purpurea glycosides A and B being different in the mode of action to digitoxin (commercial) which was chiefly degraded product of purpurea glycoside A. They concluded that in bioassay of digitoxin against a digitalis standard, a suitable authorised method should be strictly followed; and the 4 methods employing different kinds of animals recommended by British Pharmacopeia 1953 and quoted by British Pharmacopeia Codex 1954 for digitoxin would make confusions.

