

指导原则编号:

【	Z	】	G	P	T	2	-	1
---	---	---	---	---	---	---	---	---

中药、天然药物急性毒性研究 技术指导原则

二〇〇五年三月

目 录

一、概述.....	1
二、基本原则.....	1
(一) 实验管理.....	1
(二) 具体问题具体分析.....	1
(三) 试验设计.....	2
三、基本内容.....	2
(一) 受试物.....	2
(二) 实验动物.....	2
(三) 试验分组.....	2
(四) 给药途径.....	2
(五) 给药容量.....	2
(六) 观察期限.....	3
(七) 观察指标.....	3
(八) 结果处理及分析.....	3
四、不同情况的中药、天然药物急毒试验的要求.....	4
五、参考文献.....	5
六、附录.....	5
附录 I	5
急性毒性试验一般可测定的几个反应剂量	
附录 II	7
急性毒性试验的一般观察结果与可能涉及的组织、器官、系统	
七、著者.....	8

中药、天然药物急性毒性研究技术指导原则

一、概述

急性毒性是指动物一次或 24 小时内多次接受一定剂量的受试物，在一定时间内出现的毒性反应。其目的是为新药的研发提供参考信息。

中华人民共和国卫生部于 1994 年颁发的《中药新药研究指南》和国家药品监督管理局 1999 年颁发的《中药新药药理毒理研究的技术要求》，对于统一、规范中药急性毒性试验，推动我国中药的研究和开发起到了积极的作用。但随着新药研究手段的不断改进，对中药、天然药物认识的进一步深入，这些要求越来越表现出它的局限性。

多数中药、天然药物作用相对温和，中药复方制剂通过合理的配伍，也可能使毒性减轻。多数中药、天然药物新药，其处方来源有些是古方，有些是医院制剂或临床经验方，有一定的临床应用基础。但由于现代中药、天然药物制剂运用了大量的新技术甚至新的理论，与传统中药相比，物质基础和给药方式可能有明显改变，而有些改变带来的结果又是未知的，特别是当某些成分的含量明显提高后，其药理作用可能会明显增强，毒性反应也可能明显增大。因此，中药、天然药物进行急性毒性试验研究十分重要。

本指导原则是根据中药、天然药物的特点，结合国际上药物安全性评价的要求和我国药物安全性研究现状而制订的。

本指导原则适用于中药、天然药物的急性毒性试验。

二、基本原则

（一）实验管理

根据《中华人民共和国药品管理法》，急性毒性试验必须执行“药物非临床研究质量管理规范”。

（二）具体问题具体分析

中药、天然药物的情况复杂，本指导原则不可能涵盖中药、天然药物

急性毒性试验的全部内容，在进行中药、天然药物急性毒性试验时，应遵循“具体问题具体分析”的原则。

(三) 试验设计

试验设计应符合随机、对照、重复的原则。

三、基本内容

(一) 受试物

受试物应能充分代表临床试验受试物和上市药品，因此建议受试物采用制备工艺稳定、符合临床试用质量标准规定的中试样品，并注明受试物的名称、来源、批号、含量（或规格）、保存条件及配制方法等。如不采用中试样品，应有充分的理由。如果由于给药容量或给药方法限制，可采用原料药进行试验。

溶媒和/或辅料：应提供所用溶媒和/或辅料的批号、规格、生产厂家。

(二) 实验动物

一般应采用哺乳动物，雌雄各半，如临床为单性别用药，则可采用相对应的单一性别的动物。根据具体情况，可选择啮齿类和/或非啮齿类动物。所用动物应符合国家有关药物非临床安全性研究的要求。

通常采用健康成年动物进行试验。如果受试物拟用于儿童，建议考虑采用幼年动物。动物初始体重不应超过或低于平均体重的 20%。

(三) 试验分组

除设受试物的不同剂量组外，还应设空白和/或阴性对照组。

(四) 给药途径

给药途径不同，受试物的吸收率、吸收速度和暴露量会有所不同，为了尽可能观察到动物的急性毒性反应，可采用不同给药途径进行急性毒性试验，其中一种应与拟临床给药途径一致，如不采用拟临床途径给药，必须充分说明理由。

经口给药时应禁食不禁水。

(五) 给药容量

经口给药，大鼠给药容量一般每次不超过 20ml/kg，小鼠一般每次不超过 40ml/kg；其他动物及给药途径的给药容量可参考相关文献及根据实际情况确定。

（六）观察期限

一般为 14 天，如果毒性反应出现较慢，应适当延长观察时间，如观察时间不足 14 天，应充分说明理由。

（七）观察指标

包括动物体重变化、饮食、外观、行为、分泌物、排泄物、死亡情况及中毒反应（中毒反应的症状、严重程度、起始时间、持续时间、是否可逆）等。对濒死及死亡动物应及时进行大体解剖，其他动物在观察期结束后进行大体解剖，当发现器官出现体积、颜色、质地等改变时，则对改变的器官进行组织病理学检查。

（八）结果处理和分析

1、根据所观察到的各种反应出现的时间、严重程度、持续时间等，分析各种反应在不同剂量时的发生率、严重程度。根据观察结果归纳分析，考察每种反应的剂量-反应及时间-反应关系。

2、急性毒性试验一般测定最大给药量、最大无毒性反应剂量、最大耐受量、致死量等反应剂量（参考附录一）。

3、判断出现的各种反应可能涉及的组织、器官或系统等（参考附录二）。

4、根据大体解剖中肉眼可见的病变和组织病理学检查的结果，初步判断可能的毒性靶器官。如组织病理学检查发现有异常变化，应附有相应的组织病理学照片。组织病理学检查报告应经检查者签名和病理检查单位盖章。

5、说明所使用的计算方法和统计学方法，必要时提供所选用方法合理性的依据。

6、应根据急性毒性试验结果，提示在其他安全性试验、临床试验、质量控制方面应注意的问题，同时，结合其他安全性试验、有效性试验及质

量可控性试验结果，权衡利弊，分析受试物的开发前景。

四、不同情况的中药、天然药物急性毒性试验的要求

由于中药、天然药物的特殊性，在具体进行试验时可参照以下要求进行，如不按以下要求进行，应充分说明理由。

1. 未在国内上市销售的从中药、天然药物中提取的有效成分及其制剂，未在国内上市销售的来源于植物、动物、矿物等药用物质制成的制剂，未在国内上市销售的中药材新的药用部位制成的制剂，未在国内上市销售的从中药、天然药物中提取的有效部位制成的制剂，未在国内上市销售的由中药、天然药物制成的注射剂。

以上情况，由于其物质基础较传统中药发生了明显改变，或应用经验较少，一般采用两种给药途径、啮齿类和非啮齿类两种动物，全面考察受试物的急性毒性反应情况，并对结果进行分析，如不按以上要求进行，应说明理由。

如临床为非血管内给药，则建议另一给药途径采用静脉给药方式，以便全面暴露受试物的毒性反应情况。如果因为制剂等原因不能采用静脉给药，应充分说明理由，这种情况下，可采用另一种给药途径或仅采用一种拟临床给药途径进行毒性反应的观察。

血管内给药可仅采用拟临床给药途径进行毒性反应的观察。

2. 未在国内上市销售的由中药、天然药物组成的非注射给药的复方制剂。

如该复方制剂处方组成符合中医药理论，有一定的临床应用经验，一般情况下，可采用一种动物，按拟临床给药途径进行急性毒性反应的观察。

如该复方制剂为天然药物复方制剂，建议采用啮齿类和非啮齿类两种实验动物，按拟临床给药途径进行急性毒性反应的观察，如不按以上要求进行，应阐明其合理性。

如以上制剂处方中含有天然药物、有效成份或化学药品，则应当对上述药用物质进行急性毒性的相互作用研究。

3. 改变国内已上市销售药品给药途径（不包括由非注射剂改为注射剂）的制剂。

可仅采用一种动物，比较改变前后两种不同给药途径的毒性反应。

4. 改变国内已上市销售药品剂型或改变工艺但不改变给药途径的中药、天然药物复方制剂。

如制备工艺有质的改变，建议采用一种动物，按拟临床给药途径进行急性毒性的观察。

5. 增加新的适应症或者功能主治的品种。

如需延长用药周期或增加剂量者，应结合原申报资料及处方组成的情况确定是否需进行急性毒性试验、急性毒性试验的内容。

五、参考文献

1. 袁伯俊，王治乔. 新药临床前安全性评价与实践. 北京，军事医学科学出版社，1997：22-42

2. CDER, FDA. Guidance for industry: single dose acute toxicity testing for pharmaceuticals (Final). 1996

3. 徐叔云，主编. 药理实验方法学. 北京：人民卫生出版社，2002：227-231

4. 陈奇，主编. 中药药理研究方法学. 北京：人民卫生出版社，1993：112-119

5. Louis C D, Hayes A W. Acute toxicity and eye irritancy. In: Hays A W edited, Principles and methods of toxicology. Fourth edition, 2001: 853-916

六、附录

[附录 I] 急性毒性试验一般可测定的几个反应剂量

最大给药量

最大给药量指单次或 24 小时内多次（2~3 次）给药所采用的最大给药剂量。最大给药量试验是指在合理的给药浓度及合理的给药容量的条件下，以允许的最大剂量给予实验动物，观察动物出现的反应。

最大无毒性反应剂量

最大无毒性反应剂量，是指受试物在一定时间内，按一定方式与机体接触，用灵敏的现代检测方式未发现损害作用的最高剂量。

最大耐受量

最大耐受量是指动物能够耐受的而不引起动物死亡的最高剂量。从获取安全性信息的角度考虑，有时对实验动物的异常反应和病理过程的观察、分析，较以死亡为观察指标更有毒理学意义。

致死量

致死量是指受试物引起动物死亡的剂量，测定的致死量主要有最小致死量、半数致死量。

在测定致死量的同时，应仔细观察动物死亡前的中毒反应情况。

一般情况下，应测定最大无毒性反应剂量和最大耐受量或/和最小致死量或/和半数致死量。

如只能测定最大给药量，可不必进行其他毒性反应剂量的测定。

[附录 II]急性毒性试验的一般观察结果与可能涉及的组织、器官、系统

观察		指 征	可能涉及的组织、器官、系统
I. 鼻孔呼吸阻塞,呼吸频率和深度改变,体表颜色改变。	A.	呼吸困难:呼吸困难或费力,喘息,通常呼吸频率减慢	
		1.腹式呼吸:隔膜呼吸,吸气时腹部明显塌陷 2.喘息:用力深吸气,有明显的吸气声	呼吸中枢,肋间肌麻痹,胆碱能神经麻痹 呼吸中枢,肺水肿,呼吸道分泌物蓄积,胆碱功能增强
	B.	呼吸暂停:用力呼吸后出现短暂的呼吸停止	呼吸中枢,肺心功能不全
	C.	紫绀:尾部、口和足垫呈现蓝紫色	肺心功能不足,肺水肿
	D.	呼吸急促:呼吸快而浅	呼吸中枢刺激,肺心功能不全
	E.	鼻分泌物:红色或无色	肺水肿,出血
II. 运动功能:运动频率和特点的改变。	A.	自发活动、探究、梳理毛发、运动增加或减少	躯体运动, CNS
	B.	困倦:动物出现昏睡,但易警醒而恢复正常活动	睡眠中枢
	C.	正常反射消失,翻正反射消失	CNS, 感官, 神经肌肉
	D.	麻醉:正常反射和疼痛反射消失	CNS, 感官
	E.	僵住:保持原姿势不变	CNS, 感官, 神经肌肉, 自主神经
	F.	运动失调:动物活动时运动不协调,但无痉挛、局部麻痹或僵直	CNS, 感官, 自主神经
	G.	异常运动:痉挛,足尖步态,踏步、忙碌、低伏	CNS, 感官, 神经肌肉
	H.	俯卧:不移动,腹部贴地	CNS, 感官, 神经肌肉
	I.	震颤:包括四肢和全身的颤抖和震颤	神经肌肉, CNS
	J.	肌束震颤:背部、肩部、后肢和足部肌肉的运动	神经肌肉, CNS, 自主神经
III. 惊厥(抽搐):随意肌明显的无意识收缩或惊厥性收缩	A.	阵挛性抽搐:肌肉收缩和松弛交替性痉挛	CNS, 呼吸衰竭, 神经肌肉, 自主神经
	B.	强直性抽搐:肌肉持续性收缩,后肢僵硬性伸展	CNS, 呼吸衰竭, 神经肌肉, 自主神经
	C.	强直性-阵挛性抽搐:两种类型抽搐交替出现	CNS, 呼吸衰竭, 神经肌肉, 自主神经
	D.	昏厥性抽搐:通常是阵挛性抽搐并伴有喘息和紫绀	CNS, 呼吸衰竭, 神经肌肉, 自主神经
	E.	角弓反张:僵直性发作,背部弓起,头抬起向后	CNS, 呼吸衰竭, 神经肌肉, 自主神经
IV. 反射	A.	角膜眼睑闭合:接触角膜导致眼睑闭合	感官, 神经肌肉
	B.	基本反射:轻轻敲击外耳内侧,导致外耳扭动	感官, 神经肌肉
	C.	正位反射:翻正反射	CNS, 感官, 神经肌肉
	D.	牵张反射:后肢从某一表面边缘掉下时收回的能力	感官, 神经肌肉
	E.	对光反射(瞳孔反射);见光瞳孔收缩	感官, 神经肌肉, 自主神经
	F.	惊跳反射:对外部刺激(如触摸、噪声)的反应	感官, 神经肌肉

观察		指 征	可能涉及的组织、器官、系统
V. 眼检指征	A.	流泪：眼泪过多，泪液清澈或有色	自主神经
	B.	缩瞳：无论有无光线，瞳孔缩小	自主神经
	C.	散瞳：无论有无光线，瞳孔扩大	自主神经
	D.	眼球突出：眼眶内眼球异常突出	自主神经
	E.	上睑下垂：上睑下垂，刺激后动物不能恢复正常	自主神经
	F.	血泪：眼泪呈红色	自主神经，出血，感染
	G.	上睑松弛	自主神经
	H.	结膜浑浊，虹膜炎，结膜炎	眼睛刺激（激惹）
VI. 心血管指征	A.	心动过缓：心率减慢	自主神经，肺心功能低下
	B.	心动过速：心率减慢	自主神经，肺心功能低下
	C.	血管扩张：皮肤、尾、舌、耳、足垫、结膜、阴囊发红，体热	自主神经、CNS、心输出量增加，环境温度高
	D.	血管收缩：皮肤苍白，体凉	自主神经、CNS、心输出量降低，环境温度低
	E.	心律不齐：心律异常	CNS、自主神经、肺心功能低下，心肌损伤
VII. 唾液分泌	A.	唾液分泌过多：口周毛潮湿	自主神经
VIII. 竖毛	A.	毛囊竖毛肌收缩	自主神经
IX. 痛觉丧失	A.	对痛觉刺激(如热板)反应性降低	感官，CNS
X. 肌张力	A.	张力降低：肌张力普遍降低	自主神经
	B.	张力增高：肌张力普遍增高	自主神经
XI. 胃肠指征			
排便(粪)	A.	干硬固体，干燥，量少	自主神经，便秘，胃肠动力
	B.	体液丢失，水样便	自主神经，腹泻，胃肠动力
呕吐	A.	呕吐或干呕	感官，CNS，自主神经(大鼠无呕吐)
多尿	A.	红色尿	肾脏损伤
	B.	尿失禁	自主感官
XII. 皮肤	A.	水肿：液体充盈组织所致肿胀	刺激性，肾脏功能衰竭，组织损伤，长时间静止不动
	B.	红斑：皮肤发红	刺激性，炎症，过敏

七、著者

《中药、天然药物急性毒性试验技术指导原则》课题研究组