

血卟啉类新光敏剂 PSD-007 对小鼠和犬的急性毒性

沈念慈、袁伯俊、唐惠兰、李保春、刘俊平、李燕平、张璞¹

(第二军医大学抗疟药研究室和病理解剖教研室¹, 上海 200433)

摘要 血卟啉类新光敏剂 PSD-007 对小鼠的 LD₅₀ 为 0.2 g/kg, 对犬的 ALD 为 114 mg/kg iv, 相当于推荐临床量 2.5-5.0 mg/kg iv 的 20 倍以上, 提示急性毒性较小。首次报道 PSD-007 的急性毒性表现酷似罕见代谢病血卟啉病, 实验室检查发现对血液红系影响明显, 肝肾有一定损害, 均可在 2 周内减轻恢复, 为临床毒副反应监护提供了实验依据。

关键词 PSD-007, 血卟啉, 光敏失调, 血液学试验; 肝功能试验; 肾功能试验; 酶学试验

近年来应用以血卟啉衍生物(*hematoporphyrin derivatives, HpD*)为主的光敏剂(*photosensitizer*)对人癌早期光定位(*photolocalization*)诊断和光动力学治疗(*photodynamic therapy, PDT*)的研究, 虽有很大进展, 但光敏剂的毒性研究还需加强, 才有利于评价和开发更为理想的新光敏剂。

血卟啉类光敏剂都是复杂的卟啉羧酸混合物, 均为对光和热不稳定的两性有机分子。本室研制了与 HpD 相当的血卟啉光敏剂 PSD-

001⁽¹⁾, 经分离制备出一种新的卟啉类混合物, 代号 PSD-007⁽²⁾。初步分析其组分相对稳定, 不同于国内外现有的 HpD 或光敏素 II (*photofrin II*), 仅含少量血卟啉, 其光活性组分的化构正在进一步分析鉴定。本文报道其对小鼠和犬的急性毒性。

材料与方法

药物 2% PSD-007 生理盐水注射液由本室药化组提供, 经豚鼠过敏试验阴性; 1% HpD (US HpD) 注射液由解放军总医院提供。

对小鼠的急性毒性 用本校动物所繁殖的远交昆明系小鼠, 体重 18.9 ± 0.07 g, iv 给药。实验在 22 ± 1 °C 下按常规进行, 以 Finney 氏法计算 LD₅₀。

对犬的急性毒性

1. 近似致死量(ALD)的测定 按 ALD 法⁽³⁾测定。

2. 急性毒性 实验用经检疫、驱虫和检验合格的浙江杂种犬 12 只, 体重 12.5 ± 0.9 kg, 以近似 1 ALD, 0.5 ALD 和 0.25 ALD 分别为

120, 60 和 30 mg/kg 分为三个剂量及空白对照组, 每组 3 犬, ♀♂均有, 按体重分层随机分组, iv 给药, 在避光条件下观察 14 d.

3. 观察项目 中毒表现和一般情况, 血液学、生化、尿、ECG 和器官重量等卅余项生理生化指标, 给药前后作比较观察。中毒死亡犬及其余犬在 d 14 麻醉后放血致死作病理检查。

结 果

小鼠的急性毒性 PSD-007 和 HpD iv LD₅₀ 见表 1。PSD-007 和 HpD 的中毒表现基

Tab 1. LD₅₀ of iv PSD-007 and HpD in mice

	Batch number	LD ₅₀ (mg/kg)	Fiducial limits (95%, mg/kg)
HpD	—	140	111—168
PSD-007	830421	202***	176—229
PSD-007	830519	218***	201—235
PSD-007	840413	210***	186—236

***p<0.01, compared with HpD

本相似, 以后者为明显。iv 后 1.5 h 内毒性表现为兴奋、跳动、阵挛性惊厥、呼吸困难、竖毛、活动迟缓、摇晃、昏睡以及死亡。HpD 的死亡时间一般较同剂量的 PSD-007 为早。未死者大多数逐渐恢复正常, 少数仍萎靡、拒食、昏睡, 一般在给药后 24—72 h 内死亡。

犬的急性毒性

1. ALD 和 MLD 最低致死量(MLD)为 171 mg/kg, 给药后 30 h 死亡, 死前呼吸浅表、脉搏微弱, 肛温降至 36.9°C; 最高非致死量为 76 mg/kg。介于两剂量之间的 114 mg/kg 为 ALD, 给药后未死亡。犬中毒表现同下述急性毒性。

2. 中毒表现和一般情况 首先是流涎, 继则呕吐和急腹痛样表现(持续腹肌紧张和突然出现剧烈痛苦状), 随之出现躁动、嚎叫、声音嘶哑和感觉迟钝, 这些表现与剂量平行。大剂量组最为明显, 还可出现震颤、痛觉消失以至

瘫痪, 但 iv 结束后数分钟内即可重新站立, 其中有 1 犬于 d 5 死亡。

给药后各组犬的食量均明显下降, 小剂量组 d 3 即恢复正常, 大剂量组 d 7 才接近正常, 故 d 14 处死时, 大剂量组体重减轻明显(1—2 kg), 而小剂量组无明显变化。给药犬的呕吐物、尿液及粪便均呈类似血卟啉类物质的紫红色, 色深程度也与剂量平行。其中尿液用 uv 光谱分析, 证实含 PSD-007 原形物质, 未定量。此外, 大剂量组有 1 犬在 d 2 出现角膜混浊, 于 d 9 恢复。

3. 血液学检查 血液红系改变见图 1。

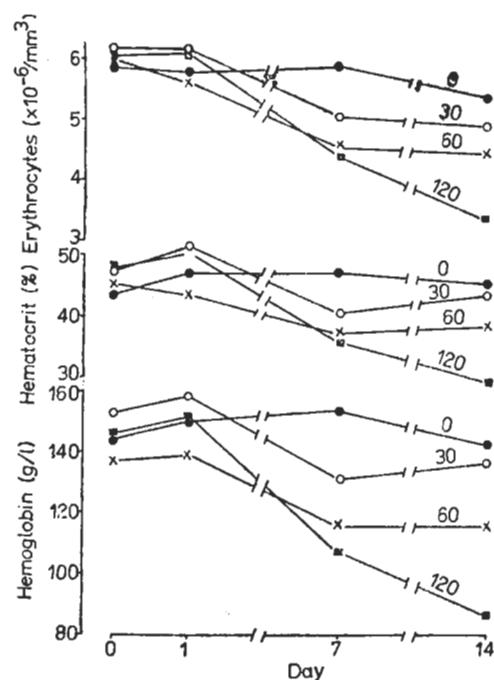


Fig 1. Toxic effects of a single iv dose of PSD-007 (30, 60 or 120 mg/kg) on erythrocyte count, hematocrit and hemoglobin. 3 dogs/group

PSD-007 iv 对犬的红细胞数、红细胞压积和血红蛋白含量均有相似的下降变化, 其程度与剂量平行。d 14 时, 大剂量组仍继续下降, 其余两组似已不再下降, 有恢复趋势。

由上述红细胞数、红细胞压积和血红蛋白值计算而得的红细胞几种平均值(MCV, MCH,

Tab 2. Toxicity of a single iv dose of PSD-007 on sGPT, serum phosphohexoisomerase (PHI) and urine protein in dogs

Dose (mg/kg)	Dog	sGPT (IU, normal 40)				PHI (U, normal 150)				Urine protein (g/l)			
		d ₀	d ₁	d ₇	d ₁₄	d ₀	d ₁	d ₇	d ₁₄	d ₀	d ₁	d ₇	d ₁₄
0	16	7	6	12	18	153	110	50	253*	73	350	40	170
	21	13	10	19	16	65	66	36	49	55	90	40	60
	24	6	5	9	20	96	35	43	147	63	100	150	630
30	9	4	26	36	8	105	162	100	102	63	110	60	35
	19	10	9	12	13	161	174	77	102	40	30	60	45
	30	9	13	18	10	66	355	173	107	38	40	410	65
60	10	10	23	12	12	74	97	150	129	70	73	65	70
	13	7	10	18	30	71	190	30	36	73	75	65	62
	38	2	28	18	20	57	172	50	98	73	78	60	55
120	17	28	34	97	10	142	260	218	120	53	2550	270	10
	20	4	95	58	15	111	372	173	178	40	2200	410	100
	29	4	70	died		96	24	died		75	75	died	

* obvious hemolysis.

MCHC)也有一些变化,但不典型,尚难确定贫血类型。

对网织红细胞和血液白系(白细胞数及分类)未见明显影响。

4. 肝功能检查 PSD-007 对犬 sGPT 的影响见表 2。大剂量组可使 sGPT 活力一度明显升高, d 14 已恢复正常; 其余两组犬未见有何影响。

未发现 PSD-007 对犬血清 AKP 和 TTT 有明显影响。血清胆红素给药前后均低于 0.17 μmol/l。

5. 酶谱(乳酸脱氢酶 LDH, γ-谷氨酰转肽酶 γ-GT, 磷酸己糖异构酶 PHI) PSD-007 对血清 LDH 和 γ-GT 无明显影响。对 PHI 的变化见表 2, 可见 d 1 酶活性普遍提高, 剂量大者一般酶活性升高也较明显, 但 d 14 时几乎都已恢复正常, 也属可逆性变化。

6. 肾功能影响 对犬的尿蛋白定量和尿沉渣镜检有明显影响。尿蛋白变化见表 2, 可见大剂量组升高非常显著; 但 d 14 时也已恢复正常。尿沉渣镜检结果也类似, 大剂量组尿中 RBC 数可达 10—20 个/高倍镜视野、上皮细胞 5—15 个/高倍镜视野, 并可见少量管型; 该组未死犬到 d 14 时也都已恢复正常。

对血清肌酐和尿 pH 的影响不明显。以上结果说明 PSD-007 对肾功能虽有一定影响, 但似较轻且可逆。

7. 空腹血糖 无明显影响。

8. ECG 变化 大剂量组犬在 d 1 可见 S-T 段下降, T 波翻转或倒置加深, d 7 时除已有 1 犬死亡外, 另 2 犬可见下降减轻, d 14 时仍有 1 犬 S-T 段下降未全恢复, 提示心功能似有一定损害。其余两组 ECG 未见明显改变。

9. 器官重量变化 对犬主要脏器的绝对重量和相对重量(绝对重量/体重或脑重)的影响以肝重增加较为明显, 尤以大剂量组更著。

10. 病理检查 以肝、肾病变较明显。肝细胞可见以可逆的气球样变为主, 程度与剂量平行, 但大剂量 1 只 d 5 死亡犬可见肝有大片出血及肝细胞坏死; 肾在大剂量组可见大部近曲小管上皮肿大变性, 部分上皮坏死, 上述死亡犬的集合管上皮有明显的空泡变, 肾小管腔内有多数蛋白管型, 中、小剂量组未见明显改变; 脑在镜下可见大剂量组有明显水肿, 胶质细胞弥漫增生, 部分神经细胞变性, 尼氏小体消失。其余可见肾上腺皮质束状带细胞类脂质消失及空泡变, 也以大剂量组为明显; 心肌未见病变, 病理检查的详情将另文报道。

讨 论

本实验表明，血卟啉类新光敏剂 PSD-007 iv 其急性毒性表现酷似临床罕见的代谢疾患卟啉病 (porphyria)。该病临床表现为皮肤、腹部及神经精神三大症群⁽⁴⁾。皮肤症群主要由波长 400 nm 左右的 UVA 引起的红斑、水肿以至溃烂⁽⁵⁾，且可造成眼部炎症，本实验 1 犬出现可逆的角膜混浊，乃避光不甚严格所致，属光毒性眼病。至于突然出现的剧痛痛苦状和腹肌板样硬，类急腹痛样，以及呕吐和呕出物为血卟啉样粘液，均与以急腹痛为特征的腹部症群相似；其余如感觉迟钝、四肢瘫痪、震颤、声音嘶哑、躁动不安、嚎叫以及流涎、呕吐等均与神经精神症群相似，这些都与急性间发性卟啉病 (acute intermittent porphyria, AIP) 的临床体征酷似，提示以 AIP 常见症状作为临床 iv PSD-007 时监护毒副反应的指标是合适的。与此同时，还应注意采取避光措施。

血卟啉病主要的病理生理为体内卟啉的产生和排泄增多。本实验人为地造成体内卟啉代谢障碍，产生类似血卟啉病的典型表现。因系 iv 推注，血浓度迅升，极易超过生理阈值，随即出现特征性症群；但 PSD-007 类似生理物质，可能因迅速排泄和代谢降解，使血浓很快降至生理阈值以下，从而症状很快缓解、消失，不易急性死亡，故表现为中毒症状明显而对小鼠的 LD₅₀ 和对犬的 MLD 和 ALD 都较大的现象，为

此，给药方法如改为静滴，使血浓缓慢上升，有可能减轻毒性症状，建议临床试用时应静滴给药，以策安全。

实验表明 PSD-007 的主要毒性靶器官为血液红系。肝功能、酶谱和尿检查都有一定变化，提示肝、肾功能有一定损害，与病理检查相符，也应为毒性靶器官。为此，对血液红系和肝、肾功能的检测应作为临床监护的主要毒性指标。病理检查所见大剂量组的脑部病变与神经精神症群密切相关，有可能是致死的原因。至于肾上腺皮质束状带的类脂质减少则与中毒的应激反应引起大量皮质激素释放有关。ECG 变化而无心肌组织病理学改变，可能尚系功能变化，仍应引起注意。

参 考 文 献

- 1 许德余、殷祥生、刘军、陈文晖。肿瘤光敏治疗药物的研究 I. 血卟啉光敏剂的研究。第二军医大学学报 1983; 4 : 161
- 2 许德余、殷祥生、陈雄、陈文晖、刘军。肿瘤光敏治疗药物的研究 II. 新光敏剂 PSD-007 的研究。同上 1984; 5 : 31
- 3 Deichmann WB, LeBlanc YJ. Determination of the approximate lethal dose with about six animals. *J Ind Hyg Toxicol* 1943; 25 : 415
- 4 Harber LC, Bickers DR. The porphyrias. In: *Photosensitivity diseases: principles of diagnosis and treatment*. Philadelphia: W B Saunders, 1981 : 189—223
- 5 袁伯俊、李宝春、沈念慈。新光敏剂 PSD-007 的光毒反应。第二军医大学学报 1984; 5 : 262

Acute toxicity of PSD-007 (a new hematoporphyrin photosensitizer) in mice and dogs

SHEN Nian-ci, YUAN Bo-jin, TANG Hui-lan, LI Bao-chun, LIU Jun-ping,
LI Yan-ping, ZHANG Pu¹

(*Lab Antimalarial Drug Research and Dept Pathologic Anatomy¹, Second Military Medical College, Shanghai 200433*)

ABSTRACT PSD-007 is a new hematoporphyrin photosensitizer prepared in our laboratory. The 95% fiducial limits of its iv LD₅₀ on mice were 176-236 mg/kg. Its iv minimal lethal dose (MLD) and approximate lethal dose (ALD) on dogs were 171 and 114 mg/kg, respectively. Since all these toxic doses were over 20 times as much as usual clinical dosage (2.5—5.0 mg/kg iv), its toxicity was considered to be low.

The manifestations of its acute iv toxicity were characterized by a complex syndrome like acute abdominal pain with various neurologic features ranging from nausea, vomiting, restlessness, howl, hoarseness, analgesia, paresis and paralysis. These manifestations were similar to those seen

in porphyrias, a metabolic defect seldom seen clinically. The hematopoietic features including RBC, WBC and hematocrit were reduced markedly. The elevated activities of sGPT, serum phosphohexoisomerase, the increased amounts of RBC, WBC, protein and occasional appearance of casts in urine demonstrated that hepatic and renal functions were impaired to some extent. All these damages were reversible within 2 wk. These results may be useful for the control of its side effects during clinical use.

KEY WORDS PSD-007; hematoporphyrins; photosensitivity disorders; hematologic tests; liver function tests; kidney function tests; enzyme tests