

· 毒理 ·

3 种增溶性辅料致大鼠肝肾损伤

张海燕^{1,2}, 韦迎春¹, 邬伟魁^{1*}, 杨军宣³, 杨明^{1,3*}

(1. 江西中医学院现代中药制剂教育部重点实验室, 南昌 330004; 2. 西南交通大学材料先进技术教育部重点实验室, 成都 610003; 3. 成都中医药大学, 成都 611137)

[摘要] 目的: 研究聚氧乙烯山梨糖醇酐单油酸酯(吐温 80), solutol HS 15, 聚氧乙烯(40)氢化蓖麻油 3 种辅料对大鼠肝、肾损伤作用。方法: 吐温 80, solutol HS 15, 聚氧乙烯(40)氢化蓖麻油 3 种辅料分别按以下方式染毒。将大鼠 72 只按雌雄各半随机分为 4 组, 每组 6 只, 分别为生理盐水对照组、辅料低、中、高剂量组, 按每只 im 0.22 mL, 每日注射 1 次, 注射 4 周后, 心脏取血后处死大鼠, 称肝、肾质量计算脏器系数, 测定大鼠血清中反映大鼠肝、肾功能的生化指标, 并对肝、肾组织进行病理学观察。结果: 吐温 80 3 个剂量组与对照组以及各剂量组之间对比无明显差异。solutol HS 15 的高、中、低剂量组与对照组对比, AST, TP, ALP, ALB 无明显差异, 各剂量组之间对比, 高剂量组与对照组、低剂量组与高剂量组的脏器系数存在显著性差异 ($P < 0.05$); 高剂量组与对照组之间 ALT 存在显著性差异 ($P < 0.05$); 低剂量组与高剂量组的 ALB, TP, ALT 存在显著性差异 ($P < 0.05$); 低、中剂量组之间 TP 存在显著性差异 ($P < 0.05$); 高、中剂量组之间 ALT 存在显著性差异 ($P < 0.05$)。聚氧乙烯(40)氢化蓖麻油 3 个剂量组, AST, ALT, ALB, ALP, TP 与对照组对比无明显差异, 各剂量组之间对比, 低、中剂量组之间、低、高剂量组之间, AST, ALT, ALB, ALP 存在显著性差异 ($P < 0.05$)。光镜下 3 种辅料的剂量组与对照组对比, 大鼠肝细胞、肾细胞除了炎症之外无明显病理改变。结论: 通过 3 种辅料的比较, 发现吐温 80 致大鼠肝、肾损伤较小。

[关键词] 药用辅料; 聚氧乙烯山梨糖醇酐单油酸酯; solutol HS 15; 聚氧乙烯(40)氢化蓖麻油; 肝损伤; 肾损伤

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)20-0237-05

[DOI] CNKI:11-3495/R.20110823.1118.013 **[网络出版时间]** 2011-08-23 11:18

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20110823.1118.013.html>

Liver and Kidney Injury Induced by Three Excipients in Rats

ZHANG Hai-yan^{1,2}, WEI Ying-chun¹, WU Wei-kui^{1*}, YANG Jun-xuan³, Yang Ming^{1,3*}

(1. Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine (TCM), Ministry of Education, Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China; 2. Key Lab. of Advanced Technology of Materials (Chinese Education Ministry), Southwest Jiaotong University, Chengdu 610003, China; 3. Chengdu University of TCM, Chengdu 611137, China)

[Abstract] **Objective:** To study liver and kidney injury induced by Tween 80, solutol HS 15 or polyoxyethylene (40) hydrogenated castor oil in rat. **Method:** The rats were randomly divided into such groups as control group, three dose groups of tween 80, three dose groups of solutol HS 15, three dose groups of polyoxyethylene (40) hydrogenated castor oil. Each rat was injected 0.22 mL of corresponding excipients q. d. for 4

[收稿日期] 20110113(010)

[基金项目] 中医药行业科研专项项目(200708006); 重大新药创制重大专项(2009ZX09103-393); 中药新型给药系统技术平台“十一五”重大新药创制项目(2009ZX09310-005)

[第一作者] 张海燕, 讲师, 在读博士, 从事中药新制剂研究, Tel: 0791-7118108 E-mail: haiyansl@163.com

[通讯作者] * 杨明, 教授, 博士, 从事中药新制剂、新技术、新工艺研究, Tel: 0791-7118658, E-mail: yangming16@126.com

* 邬伟魁, 在读研究生, 从事药用辅料研究, Tel: E-mail: weikuiwu@qq.com

weeks. Serum biochemical indicators of rat liver, kidney function were detected. Weight of liver, kidney was weighed and organ coefficient was calculated. Liver and kidney pathological changes were observed by HE staining.

Result: There was no significant difference between groups of Tween 80 and the control group. There was significant difference in liver and kidney function in different dose groups of solutol HS15 and difference dose groups of polyoxyethylene (40) hydrogenated castor oil ($P < 0.05$). There was no obvious pathological changes except some inflammatory cells in rat liver and kidney in rats in all the groups. **Conclusion:** Tween 80 might be the weakest one to cause liver and kidney injury in rats injected with the three kinds of excipients.

[**Key words**] excipients; tween 80; solutol HS 15; polyoxyethylene (40) hydrogenated castor oil; liver injury; kidney injury

近年来,随着中药注射剂不良反应的报道日益增加,增溶性辅料成为研究的焦点。聚氧乙烯山梨糖醇酐单油酸酯(吐温 80),solutol HS 15,聚氧乙烯(40)氢化蓖麻油是目前被广泛用于增溶的药用辅料。吐温 80 是一种非离子型表面活性剂,广泛应用于中药注射剂的增溶剂、乳化剂、助溶剂等。solutol HS 15 是一种新型增溶剂,具有较高的增溶能力,低溶血性,低组胺释放等优点,是一种高效安全的新型注射药物增溶剂。聚氧乙烯(40)氢化蓖麻油被广泛用于增溶剂、乳化剂等。为进一步了解 3 种辅料对肝、肾的损伤效应,本文采用 im 对大鼠进行染毒,观察大鼠肝、肾病理改变及血清中肝、肾功能指标的变化,为研究辅料引起肝、肾病理损伤机制提供一定的依据。

1 材料

1.1 动物 SPF 级 SD 大鼠 72 只,雌雄各半,体重 180 ~ 220 g,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,合格证号 SCXX(湘)2009-0004。

1.2 仪器与试剂 吐温 80 (XX 公司,SD82100/0020/8S06),聚氧乙烯(40)氢化蓖麻油(XX 公司,批号 05986036W0),solutol HS 15 (XX 公司,批号 72690524U0),谷草转氨酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、谷丙转氨酶(ALT)、白蛋白(ALB)、总蛋白(TP)、肌酐(CREA)、尿酸(UA)试剂盒购于南京建成科技有限公司,批号为 20100629;S3-18K 高速冷冻离心机(德国 SIGMA 公司)。

2 方法

2.1 样品制备 吐温 80、聚氧乙烯(40)氢化蓖麻油、solutol HS 15 分别用双蒸水配成 0.1% (低剂量)、1% (中剂量组)、10% (高剂量组)溶液,充分溶解后进行使用。

2.2 染毒方式和剂量 吐温 80、聚氧乙烯(40)氢化蓖麻油、solutol HS 15 分别按以下方式染毒。将大

鼠按雌雄各半分为 4 组,每组 6 只,分别为生理盐水对照组、低剂量组、中剂量组、高剂量组,按每只 0.22 mL (相当于高、中、低剂量组分别给予 2.2×10^{-2} , 2.2×10^{-3} , 2.2×10^{-4} mL 原辅料)进行 im,每日注射 1 次,共注射 4 周,注射期间,大鼠自由进食和饮水,每周检测大鼠体重 1 次,最后 1 次注射后禁食 24 h,水合氯醛麻醉后,心脏取血后处死大鼠,收集肝、肾标本。

2.3 检测指标

2.3.1 血液样本采集及生化检测指标 将采集的血液 $1500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,分离血清,检测以下指标:①肝功能检查:谷草转氨酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、谷丙转氨酶(ALT)、白蛋白(ALB)、总蛋白(TP)。②肾功能检查:尿酸(UA)、肌酐(CR)。

2.3.2 大鼠脏器系数及病理观察 取出大鼠肝和肾,生理盐水冲洗表面的血污,用滤纸吸干表面水分,称重,采用如下公式计算肝、肾脏器系数。

$$\text{脏器系数} = \text{脏器质量(g)} / \text{体重(g)}$$

迅速取部分组织进入 10% 福尔马林液中,常规脱水、石蜡包埋、切片、苏木精-伊红(HE)染色后显微镜下观察。

2.4 统计学分析 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,使用 SPSS 16.0 软件进行统计分析,采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD 和 SNK 检验, $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 大鼠肝、肾脏器系数的变化 吐温 80 对大鼠肝、肾脏器系数的影响得出,各组肝、肾脏器系数与对照组均无显著性差异,表明实验剂量下,吐温 80 对大鼠肝、肾脏器系数无明显影响。

solutol HS 15 对大鼠肝、肾脏器系数的影响如表 1,高剂量组肝脏器系数与对照组存在显著性差异

($P < 0.05$),低剂量组与高剂量组的肝脏器系数也存在显著性差异($P < 0.05$),其他剂量组与对照组及其他剂量组互相对比均不存在显著性差异,表明

表1 solutol HS 15 im 4周对大鼠肝、肾脏器系数的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/mL/只	肝脏器系数	肾脏器系数
生理盐水对照	-	0.030 1 \pm 0.001 9	0.006 2 \pm 0.000 7
solutol HS 15	2.2×10^{-2}	0.032 9 \pm 0.001 6 ¹⁾	0.006 3 \pm 0.000 4
	2.2×10^{-3}	0.032 2 \pm 0.002 6	0.006 8 \pm 0.000 6
	2.2×10^{-4}	0.029 5 \pm 0.001 9	0.006 7 \pm 0.000 6

注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

聚氧乙烯(40)氢化蓖麻油对大鼠肝、肾脏器系数的影响得出,各组肝、肾脏器系数与对照组均无显著性差异,表明实验剂量下,聚氧乙烯(40)氢化蓖麻油对大鼠肝、肾脏器系数无明显影响。

3.2 肝、肾组织病理学改变

3.2.1 吐温80引起的病理学改变 吐温80的高、中、低剂量组的大鼠肝、肾组织病理学观察得出,与对照组对比,3个剂量组的大鼠肝细胞、肾细胞无明显病理改变。

3.2.2 聚氧乙烯(40)氢化蓖麻油引起的病理学改变 聚氧乙烯(40)氢化蓖麻油的高、中、低剂量组的大鼠肝、肾组织病理学观察如图1~2示,与对照组对比,3个剂量组的大鼠肝细胞少量灶状或点状坏死、炎细胞散在等炎症现象,肾组织中肾小管内可见少量管型、间质血管扩张充血等炎症,除此之外无明显病理改变。

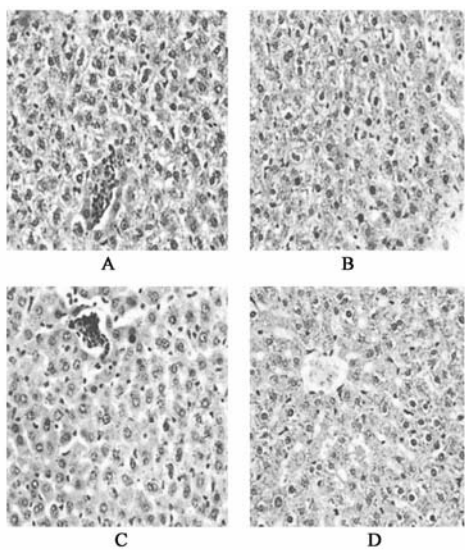


图1 聚氧乙烯(40)氢化蓖麻油对大鼠肝脏病理的影响
A. 高剂量组 2.2×10^{-2} mL/只; B. 中剂量组 2.2×10^{-3} mL/只;
C. 低剂量组 2.2×10^{-4} mL/只; D. 空白组(图2同)

solutol HS 15的高剂量对大鼠肝脏器系数有一定的影响,其他剂量组对大鼠肝、肾脏器系数无显著性的影响。见表1。

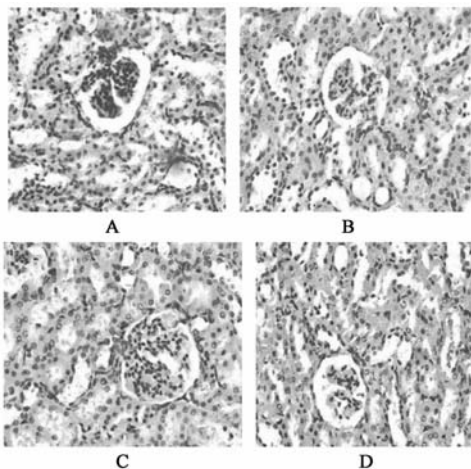
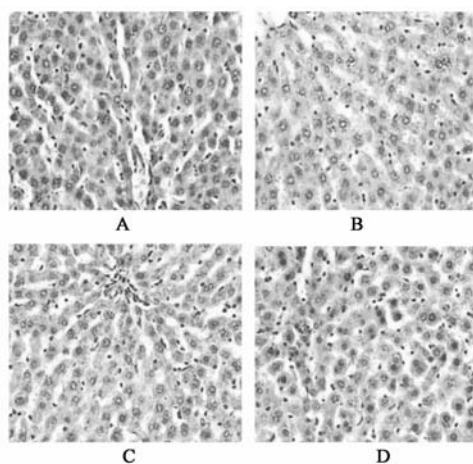


图2 聚氧乙烯(40)氢化蓖麻油对大鼠肾的影响
A. 高剂量组 2.2×10^{-2} mL/只; B. 中剂量组 2.2×10^{-3} mL/只;
C. 低剂量组 2.2×10^{-4} mL/只; D. 空白组

3.2.3 solutol HS 15引起的病理学改变 solutol HS 15的高、中、低剂量组的大鼠肝、肾组织病理学观察如图3~4示,与对照组对比,3个剂量组的大鼠肝细胞少量点状或灶状坏死,炎细胞散在等炎症现象,肾组织中存在大量管型、间质血管扩张充血等炎症现象,除此之外无明显的改变。

3.3 对大鼠肝功能的影响 吐温80肌注后大鼠肝功能指标的变化,AST,ALT,ALB,ALP,TP无明显改变,高、中、低剂量组与对照组,未存在显著性差异,且高、中、低剂量组之间不存在显著性差异。

solutol HS 15肌注后大鼠肝功能指标的变化,高、中、低剂量组与对照组对比,AST,TP,ALP,ALB无明显差异;低、中剂量组之间ALT无明显差异($P > 0.05$),高剂量组与对照组之间ALT存在显著性差异。高、中、低剂量组之间对比,低剂量组与高剂量组ALB,TP,ALT存在现在性差异($P < 0.05$);低、中剂量组之间TP存在显著性差异($P < 0.05$);高、中剂量组之间ALT存在显著性差异($P < 0.05$)。见表2。



A. 高剂量组 2.2×10^{-2} mL/只; B. 中剂量组 2.2×10^{-3} mL/只;
C. 低剂量组 2.2×10^{-4} mL/只; D. 空白组(图 4 同)

图 3 solutol HS 15 对大鼠肝的影响

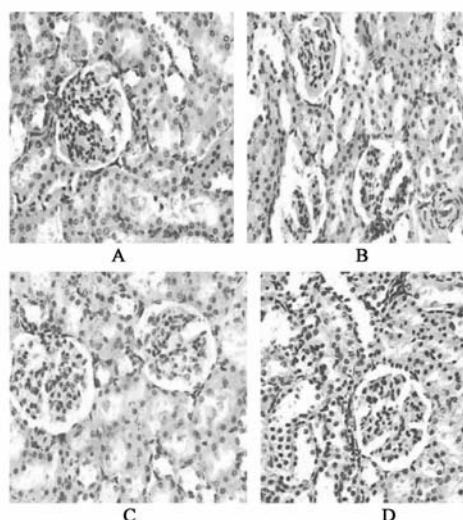


图 4 solutol HS 15 对大鼠肾的影响

表 2 solutol HS 15 对大鼠肝功能指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ mL/只	AST/U·L ⁻¹	ALT/U·L ⁻¹	ALB/g·L ⁻¹	ALP/U·L ⁻¹	TP/g·L ⁻¹
生理盐水对照	-	21.13 ± 18.8	12.37 ± 4.99	28.96 ± 7.52	338.78 ± 5.63	35.24 ± 4.76
solutol HS 15	2.2×10^{-2}	28.49 ± 16.1	15.18 ± 3.89 ¹⁾	33.16 ± 3.39	326.20 ± 5.98	34.38 ± 2.78
	2.2×10^{-3}	22.19 ± 13.8	12.20 ± 4.64	32.00 ± 3.02	291.45 ± 5.69	35.50 ± 2.95
	2.2×10^{-4}	28.75 ± 15.1	13.24 ± 2.43	27.90 ± 4.46	336.96 ± 8.06	35.63 ± 5.99

注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

聚氧乙烯(40)氢化蓖麻油肌注后大鼠肝功能指标的变化,AST,ALT,ALB,ALP,TP 无明显改变,高、中、低剂量组与对照组,未存在显著性差异。高、中、低剂量组之间,AST,ALT,ALB,ALP 无明显差异;低、中剂量组之间,低、高剂量组之间存在显著性差异($P < 0.05$)。

3.4 对大鼠肾功能影响 吐温 80 肌注后大鼠肾功能指标的变化,UA,CR 无明显改变,高、中、低剂量组与对照组,未存在显著性差异,且高、中、低剂量组之间不存在显著性差异。

solutol HS 15 肌注后大鼠肾功能指标的变化,高、中、低剂量组与对照组,UA 无明显差异,CR 存在显著性差异。高、中、低剂量组之间不存在显著性差异。

聚氧乙烯(40)氢化蓖麻油肌注后大鼠肾功能指标的变化,UA,CR 无明显改变,高、中、低剂量组与对照组,未存在显著性差异,且高、中、低剂量组之间不存在显著性差异。

4 讨论

中药注射液中吐温 80 的最大使用量约为 $80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,通过对人鼠之间的换算,配成 1% 吐温 80 溶液,每只大鼠注射 1% 吐温 80 溶液的体积约 0.22 mL,故规定注射体积为 0.22 mL。

大鼠肌注吐温 80, solutol HS 15, 聚氧乙烯(40)氢化蓖麻油溶液 4 周后,经指标的测定及病理切片的观察得出, solutol HS 15 对大鼠肝、肾存在一定的损伤,但未出现严重的病理改变;聚氧乙烯(40)氢化蓖麻油对大鼠肝有一定的损伤,但对肾的损伤较小;吐温 80 各项指标均未出现异常,未对肝、肾细胞造成明显影响,说明肌注吐温 80 对大鼠的肝肾的损伤在 3 种辅料中是最小的。本文对其只进行了初步的研究,可能存在一定的局限性,为能更深入的对其研究,故建议采用体外细胞评价的方法。另有研究表明,吐温 80 会造成一定的肝损伤^[3],但对大鼠的肝、肾损伤不大,可能是由于吐温 80 对不同种属的动物的影响不同^[4]。为能充分的阐述其具体原因,

异长春花碱脂质体的制备及安全性评价

程岚¹, 李学涛^{1*}, 唐凌²

(1. 辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116600; 2. 大连医科大学, 辽宁 大连 116044)

[摘要] 目的: 制备异长春花碱(vinorelbine VRB)脂质体, 并对其安全性进行初步评价。方法: 采用薄膜分散法制备 VRB 脂质体, 对 VRB 脂质体的急性毒性、血管刺激性及溶血性等安全因素进行考察, 并以 VRB 注射液为对照, 比较 2 种制剂的半数致死量(LD₅₀)、溶血性及血管刺激性等指标。结果: 所制备的 VRB 脂质体平均粒径 158.3 nm, 包封率为 85.3%; VRB 脂质体及注射液的 LD₅₀ 分别为 16.02, 4.16 mg·kg⁻¹; 与注射液比 VRB 脂质体不引起家兔溶血和红细胞聚集反应, 静脉注射对家兔血管刺激性较 VRB 注射液减轻。结论: 所制备的 VRB 脂质体粒径均匀, 形态圆整, 包封率符合《中国药典》要求, 并且和注射液比具有较高的安全性。

[关键词] 异长春花碱; 脂质体; 安全性; 血管刺激性; 溶血性

[中图分类号] R965.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)20-0241-04

Preparation and Safety Evaluation of Vinorelbine Liposems

CHENG Lan¹, LI Xue-tao^{1*}, TANG Ling²

(1. Medicine Institute of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China;
2. Dalian Medical University, Dalian 116044, China)

[Abstract] **Objective:** To prepare the vinorelbine liposomes (VL) and investigate its safety. **Method:** Liposomes was prepared by thin-film ultrasonication method. The acute toxicity of VL was evaluated in Kunming mice. Its vein irritation and hemolysis was characterized in rabbits. Vinorelbine injection (VI) was taken as the control. LD₅₀, vein irritation and hemolysis of these two preparations was compared. **Result:** The particle size of the liposome was 158.3 nm; The bilayer of the liposome was seen clearly; and the entrapment efficiency was 85.3%. The LD₅₀ of VL and VI in mice was 16.02, 4.16 mg·kg⁻¹ respectively. None of hemolysis, hemagglutination and vein irritation was observed after intravenous injection of VL into rabbits. **Conclusion:** Compared with VI, VL was safer and more efficient.

[Key words] vinorelbine; liposome; safety; vein irritation; hemolysis

[收稿日期] 20110303(001)

[基金项目] 辽宁中医药大学青年药学人才基金(yxrc0911)

[第一作者] 程岚, 在读博士, 硕士研究生导师, 新药开发, Tel: 0411-87586010, E-mail: sychenglan@163.com

[通讯作者] * 李学涛, 讲师, 新型给药系统的研究, Tel: 0411-87586010, E-mail: lixuetao1979@yahoo.cn

肝、肾毒性的体外细胞评价方法, 或是研究辅料毒性的有效手段, 值得在进一步研究中探索。

[参考文献]

[1] 马力, 林治卿, 张华山, 等. 非暴露式气管滴注 3 种典型纳米材料对大鼠肝、肾的毒性效应[J]. 生态毒理学报, 2008, 3(6): 584.

[2] 林本成, 裘著革, 张英鸣, 等. 三种纳米材料致大鼠肝肾损伤初步研究[J]. 卫生研究, 2008, 37(6): 651.

[3] 吴毅, 金少鸿. 药物辅料吐温 80 的药理、药动学及分析方法研究进展[J]. 中国药事, 2008, 22(8): 717.

[4] 何永亮, 易勇, 王红星, 等. 含吐温 80 中药注射剂对犬致过敏的研究[J]. 中药药理与临床, 2005, 21(1): 55.

[责任编辑 聂淑琴]