

大鼠腹腔和静脉给予羟丙基- β -环糊精毒性比较实验研究

刘妍¹,程晓翔²,郭传敏²,柴振海¹,张宗鹏^{1*}

(1. 天津药物研究院 新药评价中心,天津 300193; 2. 天津市新药安全评价研究中心,天津 300193)

摘要:目的 给大鼠连续iv和ip羟丙基- β -环糊精(HP- β -CD),观察是否产生蓄积毒性反应,确定毒性反应的靶器官及损害程度,并比较在试验剂量下2种给药方式毒性表现的差异。方法 给大鼠ip HP- β -CD 200 mg/kg、iv 54 mg/kg,连给30 d。观察一般状态反应,检测血液学、血液生化学、组织病理学等指标。结果 除ip给予HP- β -CD 200 mg/kg的动物表现出不同程度的腹膜刺激症状外,动物一般状况良好,体质量、进食量、血液学及血液生化指标均无异常。但组织病理学观察可见,2种给药方式的动物肾脏均出现皮质部分肾小管上皮明显空泡化、细胞肿胀、胞浆呈疏松淡染的圆形空泡状;肺脏均出现肺泡及间隔内有泡沫细胞。结论 HP- β -CD ip给药剂量为200 mg/kg、iv给药剂量为54 mg/kg,连给30 d,表现出明显的肾脏毒性和肺脏毒性,毒性表现程度无明显差异;ip给药对腹膜有刺激性。

关键词:羟丙基- β -环糊精; 静脉注射; 腹腔注射; 毒性

中图分类号:R965.3

文献标识码:A

文章编号:1674-5515(2009)06-0361-04

Comparative study on toxicity of intravenous and intraperitoneal injection of Hydroxypropyl- β -cyclodextion in rats

LIU Yan¹, CHENG Xiao-xiang², GUO Chuan-min², CHAI Zhen-hai¹, ZHANG Zong-peng¹

(1. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China; 2. Tianjin Center for Drug Safety Evaluation and Research, Tianjin 300193, China)

Abstract; Objective To observe whether continuous iv and ip of hydroxypropyl- β -cyclodextion (HP- β -CD) induces cumulative toxicity and determine the target organ and severity, and to compare the toxicity in the two ways of injection. **Methods** Rats were daily given HP- β -CD (200 mg/kg) via ip or HP- β -CD (54 mg/kg) via tail iv for 30 d. The general conditions of rats were observed, and parameters of hematology, biochemical and histopathology were measured. **Results** Rats ip with HP- β -CD (200 mg/kg) showed different peritoneal irritations. Other rats were in good condition, without abnormal parameters in body weight, food intake, hematology and blood biochemistry. However, histopathologic investigation showed that ip and iv of HP- β -CD caused changes in kidney: the marked vacuolization of the renal tubular epithelial in the renal cortex, cell swelling, round vacuolar of the cytoplasm. They also caused changes in lungs: foam cells in the alveolar and the alveolar septum. **Conclusion** Consecutive ip of HP- β -CD (200 mg/kg) and iv of HP- β -CD (54 mg/kg) for 30 d show obvious nephrotoxicity and pulmonary toxicity. No significant differences appear in the toxicity caused by the two ways of injection ip of HP- β -CD (200 mg/kg) can cause peritoneal irritation in rats.

Key words: Hydroxypropyl- β -cyclodextion; intravenous injection; intraperitoneal injection; toxicity

羟丙基- β -环糊精(HP- β -CD)是 β -环糊精的衍生物之一,易与药物形成包合物,在提高药物的溶解

度、溶出速度和稳定性等方面有较大的实用价值。笔者观察了HP- β -CD以ip和iv 2种不同方式给予

基金项目 国家科技支撑计划地方重大专项(2007BAQ00162)

作者简介 刘妍(1973—),女,药理学硕士,主要从事药物一般毒理和特殊毒理方面的研究。E-mail: maiyan0456@sina.com

* 通讯作者 张宗鹏 Tel: (022) 23006865

大鼠后的毒性表现,以期为其开发利用提供参考。

1 材料

1.1 药品与试剂

HP- β -CD,由天津药物研究院药物创新研究中心提供;5%葡萄糖溶液,无色透明液体,批号07062102,天津市津兰药业有限公司生产,室温、密闭保存。

1.2 仪器

HEMAVET 950 动物血液分析仪,英国 Drew Scientific 公司生产;日立 7080 型自动生化分析仪,日本日立公司生产;LEICADML B2 病理显微摄影仪,德国 Leica 公司生产。

1.3 实验动物

SD 大鼠, SPF 级, 48 只, 雌雄各半, 体质量 124~144 g, 北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 质量合格证: 0100351。动物购入后在检疫室内观察 7 d, 无异常的用于本实验。大鼠在本院中心实验动物室屏障环境内饲养, 室温 20~25 ℃, 湿度 40%~70%, 10~15 次/小时全新风, 12 h 照明、12 h 黑暗。实验动物使用许可证号: SYXK(津)2006-0002。

2 方法

2.1 分组与给药

大鼠按区组随机分为 4 组, 每组 12 只, 雌雄各半。分别为 ip 5% 葡萄糖 10 mL/kg 组, ip HP- β -CD 200 mg/kg 组, iv 5% 葡萄糖 10 mL/kg 组, iv HP- β -CD 54 mg/kg 组。分组次日开始给药, 给药体积为 10 mL/kg, 每天上午给药 1 次, 连续给药 30 d。

2.2 HP- β -CD 毒性检测指标

表 1 HP- β -CD ip 与 iv 给药 30 d 期间对大鼠体质量的影响($\bar{x} \pm s$, n=12)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	雄鼠体质量/g			雌鼠体质量/g		
		0 d	14 d	28 d	0 d	14 d	28 d
ip 葡萄糖	500	143.2±8.6	244.0±21.2	324.2±14.4	124.5±4.8	177.8±7.5	215.0±12.2
ip HP- β -CD	200	143.2±7.1	243.7±9.8	311.3±13.2	125.2±5.2	184.5±19.7	231.2±24.1
iv 葡萄糖	500	142.5±7.4	229.5±7.0	296.3±11.6	124.3±5.8	176.3±8.7	218.2±10.9
iv HP- β -CD	54	142.3±6.9	238.7±14.7	314.2±25.8	124.8±5.7	173.8±11.7	208.2±12.2

给药 30 d, HP- β -CD 组大鼠饲料的消耗与葡萄糖溶液组相比未见明显增多或减少。

3.4 HP- β -CD 对大鼠血液学指标与凝血因子的影响

给药 30 d, ip HP- β -CD 组雌鼠的 N 较葡萄糖溶液组偏高, iv HP- β -CD 组的 Hb、RBC 较葡萄糖溶液组高, PT 比葡萄糖溶液组缩短, 这些差异均有

在给药期间, 观察大鼠一般状态反应; 给药 30 d 后的次日, 剖杀全部动物, 进行血液学指标血红蛋白(Hb)、红细胞(RBC)、白细胞(WBC)、血小板(PLT)、凝血时间(PT)、网织红细胞(Ret)、淋巴细胞(L)、中性粒细胞(N)、嗜酸细胞(E)、单核细胞(M), 血液生化指标丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、尿素氮(BUN)、肌酐(Crea)、总胆红素(T-BIL)、肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)等的检测, 进行系统尸检和组织病理学检查。

2.3 数据处理

计量资料采用组间 t 检验进行分析, 计数资料采用 SPSS 11.0 版 NPar Tests Mann-Whitney Test 方法分析, 结果以平均值土标准差($\bar{x} \pm s$)形式表示。

3 结果

3.1 HP- β -CD 对大鼠一般症状的影响

各给药组给药期间无动物死亡, 大鼠一般状况良好, 眼、鼻、口和肛门等未见异常分泌物, 无竖毛、尿黄、稀便或软便等现象出现。动物精神、外观均无异常。

在给药初期, ip HP- β -CD 200 mg/kg 组大鼠一经给药即出现不同程度的扭体, 且扭体频率高, 持续时间长; 在给药后期, 扭体出现时间延迟, 扭体频率降低, 持续时间缩短。

3.2 HP- β -CD 对大鼠体质量的影响

给药 30 d, HP- β -CD 组大鼠体质量与葡萄糖溶液组比较均无显著性差异。结果见表 1。

3.3 HP- β -CD 对大鼠进食的影响

统计学意义($P < 0.05$), 但数值变化均不大, 考虑非 HP- β -CD 毒性反应。结果见表 2、3。

3.5 HP- β -CD 对大鼠血液生化学指标的影响

给药 30 d, ip HP- β -CD 组大鼠 ALT、ALP、Crea、T-BIL 和氯离子(Cl⁻)与葡萄糖组比较有显著差异($P < 0.05$); iv HP- β -CD 组 T-BIL 与葡萄糖组比较有显著性差异($P < 0.05$)。除 ip HP- β -CD 组

Crea 指标的变化并结合病理检查考虑不排除药物因素外,上述其他指标的变化均无明显临床意义,认为属正常生理波动,而非药物影响。结果见表 4、表 5。

表 2 HP-β-CD ip 与 iv 给药 30 d 对雄性大鼠血液学指标的影响($\bar{x} \pm s$, n=6)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	Hb/(g·L ⁻¹)	RBC/(10 ¹² ·L ⁻¹)	WBC/(10 ⁹ ·L ⁻¹)	PLT/(10 ⁹ ·L ⁻¹)	PT/s	Ret/%
ip 葡萄糖	500	175.2±12.5	7.77±0.43	11.48±4.89	875.2±202.6	14.27±1.02	0.42±2.1
ip HP-β-CD	200	177.5±8.0	7.72±0.47	12.71±2.16	922.7±174.1	13.28±1.24	0.35±0.8
iv 葡萄糖	500	170.8±11.7	7.83±0.70	11.60±2.36	938.0±148.0	13.18±0.73	0.45±0.8
iv HP-β-CD	54	172.2±16.3	8.05±0.78	10.78±2.27	914.7±136.7	13.08±0.53	0.53±3.9
组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	L/%	N/%	E/%	M/%		
ip 葡萄糖	500	59.46±8.54	31.27±6.52	0.92±1.01	7.79±1.20		
ip HP-β-CD	200	60.42±3.60	30.88±1.81	1.46±1.02	6.76±0.81		
iv 葡萄糖	500	64.09±5.04	27.49±4.57	0.55±0.71	7.66±1.54		
iv HP-β-CD	54	58.99±3.49	31.98±3.67	0.84±0.99	7.86±0.92		

表 3 HP-β-CD ip 与 iv 给药 30 d 对雌性大鼠血液学指标的影响($\bar{x} \pm s$, n=6)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	Hb/(g·L ⁻¹)	RBC/(10 ¹² ·L ⁻¹)	WBC/(10 ⁹ ·L ⁻¹)	PLT/(10 ⁹ ·L ⁻¹)	PT/s	Ret/%
ip 葡萄糖	500	164.5±8.3	7.22±0.65	10.94±1.99	876.2±160.8	14.22±1.32	0.60±3.6
ip HP-β-CD	200	167.3±7.3	7.59±0.48	10.64±1.84	960.7±163.5	14.07±0.62	0.43±2.7
iv 葡萄糖	500	153.8±7.3	7.13±0.29	11.27±3.03	909.5±135.8	14.73±0.52	1.17±5.1
iv HP-β-CD	54	168.2±6.9**	7.49±0.20*	8.99±2.60	998.0±146.3	13.77±0.69*	0.85±6.3
组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	L/%	N/%	E/%	M/%		
ip 葡萄糖	500	66.25±4.21	24.14±1.99	1.36±0.99	7.65±1.63		
ip HP-β-CD	200	63.61±2.82	27.85±3.04*	1.17±0.95	6.96±1.23		
iv 葡萄糖	500	65.34±2.00	26.89±1.62	1.10±0.70	6.15±1.44		
iv HP-β-CD	54	62.89±4.54	29.18±4.61	0.55±0.98	7.26±0.88		

与葡萄糖组比较: * P<0.05 ** P<0.01

表 4 HP-β-CD ip 与 iv 给药 30 d 对雄性大鼠血液生化指标的影响($\bar{x} \pm s$, n=6)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	ALT/(U·L ⁻¹)	AST/(U·L ⁻¹)	ALP/(U·L ⁻¹)	BUN/(mmol·L ⁻¹)	Crea/(μmol·L ⁻¹)	T-BIL/(μmol·L ⁻¹)
ip 葡萄糖	500	30.1±3.8	161.2±23.2	341.6±36.2	9.18±1.35	48.6±3.5	2.40±0.24
ip HP-β-CD	200	25.0±2.8*	151.8±23.4	281.4±46.8*	10.14±0.78	55.8±3.2**	2.36±0.27
iv 葡萄糖	500	29.1±4.5	146.0±18.4	274.1±47.8	7.63±0.67	44.6±4.9	2.48±0.14
iv HP-β-CD	54	30.0±6.0	155.2±26.8	322.1±57.5	7.11±0.73	47.1±6.6	2.21±0.15*
组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	CK/(U·L ⁻¹)	LDH-L/(U·L ⁻¹)	Na/(mmol·L ⁻¹)	K ⁺ /(mmol·L ⁻¹)	Cl ⁻ /(mmol·L ⁻¹)	
ip 葡萄糖	500	1250.8±358.7	1387.6±343.2	141.1±2.0	5.75±0.28	106.7±1.6	
ip HP-β-CD	200	1086.5±327.0	1260.9±439.2	141.3±1.1	5.47±0.36	105.0±1.1	
iv 葡萄糖	500	989.1±291.8	1178.4±427.9	143.4±1.6	6.00±0.32	105.8±1.6	
iv HP-β-CD	54	1047.4±128.9	1016.7±102.4	140.7±6.4	5.92±0.30	105.0±1.6	

与葡萄糖组比较: * P<0.05 ** P<0.01

表 5 HP-β-CD ip 与 iv 给药 30 d 对雌性大鼠血液生化指标的影响($\bar{x} \pm s$, n=6)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	ALT/(U·L ⁻¹)	AST/(U·L ⁻¹)	ALP/(U·L ⁻¹)	BUN/(mmol·L ⁻¹)	Crea/(μmol·L ⁻¹)	T-BIL/(μmol·L ⁻¹)
ip 葡萄糖	500	23.1±4.1	124.1±15.7	211.6±28.1	10.23±1.40	53.6±4.1	2.58±0.24
ip HP-β-CD	200	20.1±5.2	129.2±13.1	170.1±51.5	9.66±1.05	55.3±3.6	2.28±0.18*
iv 葡萄糖	500	21.5±4.2	124.0±9.9	158.8±29.7	8.15±0.78	46.7±3.2	2.52±0.23
iv HP-β-CD	54	21.3±3.7	144.4±24.1	168.5±28.3	9.43±1.30	51.3±4.0	2.31±0.32
组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	CK/(U·L ⁻¹)	LDH-L/(U·L ⁻¹)	Na/(mmol·L ⁻¹)	K ⁺ /(mmol·L ⁻¹)	Cl ⁻ /(mmol·L ⁻¹)	
ip 葡萄糖	500	891.2±147.0	880.6±170.1	141.3±1.1	5.42±0.16	106.7±0.6	
ip HP-β-CD	200	779.2±218.2	792.3±252.3	141.8±1.8	5.23±0.16	105.0±0.8*	
iv 葡萄糖	500	838.8±147.5	1049.8±230.8	139.9±7.4	5.65±0.12	105.4±1.2	
iv HP-β-CD	54	850.9±315.0	968.5±373.6	141.1±5.7	5.56±0.26	105.9±1.4	

与葡萄糖组比较: * P<0.05 ** P<0.01

3.6 系统尸检结果

HP-β-CD ip 与 iv 给药组部分动物双肾颜色较黄,其中 ip 给药组的 2 只动物肾表面不光滑,其他各组动物的被检脏器未发现肉眼可见的明显病理改变。

3.7 组织病理学检查结果

镜检发现,HP- β -CD ip 与 iv 给药的主要病理改变是大鼠肾和肺的病变,表现在肾皮质部分肾小管上皮明显空泡化、细胞肿胀、胞浆呈疏松淡染的圆形空泡状,与肉眼所见的肾颜色较黄相吻合;肺泡及间隔内可见泡沫细胞。在 ip 给药组,少量动物腹膜壁层或脏层有少量炎细胞浸润及个别动物腹膜增厚,认为系给药时机械刺激或腹腔内感染引起的炎性增生,而非药物直接作用的结果。其他主要脏器未见明显病理改变。

4 讨论

在本实验中,连续 30 d 给大鼠 ip 或 iv HP- β -CD,观察给药期间一般毒性反应、体质量、进食量、血液学与血液生化学指标、组织病理学改变等。结果 ip HP- β -CD 组大鼠表现不同程度的扭体反应,可能为 200 mg/kg 的 HP- β -CD 具有一定的刺激性。随给药时间的延长,扭体出现频率减少,持续时间缩短,且动物产生耐受性。HP- β -CD ip 或 iv 组 Crea 均较葡萄糖组偏高,可能与 HP- β -CD 对肾脏有影响、进而造成肌酐清除能力降低有关。正常生理状态下,肺表面活性物质在巨噬细胞内异化,这一过程出现障碍,会使磷脂积聚在巨噬细胞胞浆内^[1]。组织病理学检查可见,ip 或 iv 给予 HP- β -CD,所有动物肺泡内均出现泡沫细胞,可能是药物影响了巨噬细胞的溶酶体对吞噬脂质的降解作用所引起的。

HP- β -CD ip 或 iv 给药后,大鼠的另一个病理改变为肾皮质部分肾小管上皮空泡化,可能是 HP- β -CD 与血中胆固醇形成稳定的复合物,尿中游离胆固醇过低,从而导致胆固醇和胆固醇酯在膀胱和肾盂中聚集,而后者则可能诱导肾脏发生病变^[2];亦可能与 HP- β -CD 中的已知杂质 β -环糊精有关^[3]。

上述实验结果表明,给大鼠 ip 或 iv HP- β -CD 30 d,肾和肝脏是主要的毒性靶器官,且 200 mg/kg 剂量的 HP- β -CD 具有一定的刺激性,ip 和 iv 所产生的毒性程度无明显差异。在现阶段,虽然 HP- β -CD 具有良好的水溶性和增溶效果,然而将其作为药用辅料的药物被批准上市的并不多,造成这种局面的影响因素很多,其中对 HP- β -CD 的安全性了解不够深入亦为原因之一^[4],故将其用于药用辅料,特别是注射液辅料时仍需慎重。

参考文献

- [1] 王捷. 毒性病理学[M]. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 2004.
- [2] Gould S, Scott R C. 2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD): a toxicology review [J]. Food Chem Toxicol, 2005, 43 (10): 1451-1459.
- [3] 魏农农. 羟丙基- β -环糊精作为静脉制剂的增溶剂需要考虑的问题[J/OL]. 2005, [2006-03-06]. <http://www.cde.org.cn/page/framelimit.cbs?ResName=dzkw>.
- [4] 王艳芝, 郑甲信, 毕殿洲, 等. 羟丙基- β -环糊精用于静脉给药的研究概况[J]. 中国新药杂志, 2007, 16(13): 1010-1014.

(收稿日期 2009-06-21)

不同种质黄芩体外抑菌作用的研究

路俊仙¹, 崔璐², 张才波³, 林慧彬¹, 林建群^{4*}, 林建强^{4*}

(1. 山东省中医药研究院 中药资源室, 山东 济南 250014; 2. 山东中医药大学中药学院, 山东 济南 250014;

3. 山东教育学院, 山东 济南 250013; 4. 山东大学生命科学院 微生物技术国家重点实验室, 山东 济南 250100)

摘要:目的 比较不同种质黄芩的体外抑菌作用,为黄芩优良品种筛选提供理论依据。方法 用 K-B 纸片扩散法观察 100% 黄芩浸出液对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、白色念珠菌、绿脓杆菌的抑菌作用。结果 不同种质的黄芩对金黄色葡萄球菌的抑制作用最强,对绿脓杆菌及白色念珠菌也有较强的抑制作用,对大肠杆菌的抑制则较弱。承德黄芩、莒县黄芩、河北高杆黄芩的抑菌作用较好。结论 不同种质的黄芩抑菌作用有差异。

关键词:黄芩; 种质资源; 抑菌

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

文章编号:1674-5515(2009)06-0364-03

基金项目 2005 年、2008 年山东省农业良种工程重大课题(2005LZ08-03);2007 年山东省中医药发展计划课题(2007-120)。

作者简介 路俊仙(1979—),女,主要从事中药材品种、质量及鉴定研究。Tel: 0531-82949822, E-mail: ljjxjx2003@yahoo.com.cn

* 通讯作者 林建群, Tel: (0531)88364429, E-mail: Jianqunlin@sdu.edu.cn

林建强, Tel: (0531)88365218, E-mail: Jianqianglin@hotmail.com