

芮亚培, 欧阳五庆, 邱 刚. 红霉素纳米乳的制备及安全性评价[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(10): 186–187.

# 红霉素纳米乳的制备及安全性评价

芮亚培<sup>1</sup>, 欧阳五庆<sup>2</sup>, 邱 刚<sup>1</sup>

(1. 西藏大学农牧学院, 西藏林芝 860000; 2. 西北农林科技大学动物医学院, 陕西杨凌 712100)

**摘要:**利用伪三元相图法, 以吐温-80 为表面活性剂、无水乙醇为助表面活性剂、乙酸乙酯为油相、红霉素原料药为主药, 制备出红霉素纳米乳; 用急性毒性试验法对红霉素纳米乳的安全性进行评价, 结果表明, 红霉素纳米乳口服液 LD<sub>50</sub> 为 4 567 mg/kg, 属于低毒药物。

**关键词:**红霉素; 纳米乳; 制备; 安全性

**中图分类号:** R978.1<sup>+</sup>5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)10-0186-02

红霉素是大环内酯类抗生素, 主要用于治疗耐药金黄色葡萄球菌、溶血性链球菌所引起的严重感染如肺炎、败血症、子宫内膜炎、乳腺炎等, 对支原体所引起的慢性呼吸道疾病、霉形体肺炎也有较好疗效, 在兽医临床上也有广阔的应用前景。传统红霉素制剂因内服后易被胃酸破坏, 体内半衰期短, 且在肝内有部分药物会被灭活, 致使服用剂量大、服用频繁和消化道反应明显。作为药物载体, 纳米乳热力学稳定, 能极大地提高难溶性药物在水中的溶解性, 可同时增溶不同脂溶性的药物, 其粒径小、黏度低、药物在其中分散性好, 有利于机体迅速吸收, 提高药物的生物利用度, 降低其毒副作用。因此, 采用伪三元相图法, 以吐温-80 为表面活性剂、无水乙醇为助表面活性剂、乙酸乙酯为油相、红霉素原料药为主药, 制备出红霉素纳米乳。经考察可知, 红霉素纳米乳完全符合纳米乳的一般特征, 其质量稳定性及体外药效均良好<sup>[1]</sup>。在前期工作的基础上进一步对其安全性进行评价。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 主要试剂 吐温-80 (化学纯, 天津市登峰化学试剂厂), 无水乙醇 (中国医药集团上海化学试剂公司), 乙酸乙酯 (陕西西安化学试剂厂), 红霉素原料药 (广东省韶关集琦药业有限公司), 蒸馏水 (自制); 红霉素纳米乳 (自制), 空白纳米乳 (自制)。

1.1.2 试验动物 昆明种小白鼠 18~22 g, 雌雄各半, 由第四军医大学实验动物中心提供, 合格证号为 SCXK (军) 2002-005。动物饲养于普通级动物房, 温度 19~22 ℃, 相对湿度 40%~70%。

### 1.2 方法

1.2.1 红霉素纳米乳的制备<sup>[1]</sup> 红霉素 1%、无水乙醇 10%、吐温-80 30%、乙酸乙酯 4.4%、去离子水 54.6% (以上各组分均为质量分数, 下同)。按此方法制备出 1% 红霉素纳米乳。

1.2.2 空白纳米乳的制备 按照无水乙醇 10%、吐温-80 30%、乙酸乙酯 4.4%、去离子水 55.6% 的比例混合, 制备出空白纳米乳。

1.2.3 急性毒性试验<sup>[2-4]</sup> 试验分为正常组、生理盐水组、空白纳米乳组、1% 红霉素纳米乳组, 除正常组外, 每组均有 3 个剂量组。在正式试验前, 用制备的红霉素纳米乳对小白鼠灌胃 1 次, 剂量为小白鼠能耐受的最大容积, 发现小白鼠在 24 h 内均未死亡。在试验过程中用 1% 红霉素纳米乳给试验小鼠灌胃观察, 根据小白鼠能灌胃的最大体积及预试验结果, 20 g 的小白鼠灌胃剂量分别为 0.4、0.5、0.6 mL。

由于一次给药后无法测定一次的半数致死剂量 (LD<sub>50</sub>), 因此依据中华人民共和国卫生部药政管理局《中药新药研究指南》, 对受试药物进行最大耐受量 (MTD) 的测定<sup>[5]</sup>。取昆明种小白鼠 96 只, 随机分为 3 组, 除正常组 24 只 (雌雄各半) 外, 每个剂量 8 只。试验前先禁食 12 h, 定时灌胃 2 次/d, 连续给药 7 d, 给药后自由饮水和进食, 观察用《啮齿类动物急性中毒症状观察项目表》中的项目<sup>[6]</sup>, 每天上午、下午分别观察 2 次, 连续观察 7 d, 记录中毒结果。统计死亡结果, 并对死亡小鼠进行病理剖检, 根据死亡数量计算出最大耐受量。小白鼠最大耐受倍数 = 每只小鼠平均给药量/小鼠平均体重 × 成人体重/人每日用量。根据 SAS 软件 Bliss 法, 自行编制程序, 计算出其累积的 LD<sub>50</sub>。

## 2 结果与分析

红霉素纳米乳给药系统对小鼠急性毒性试验结果见表 1。根据 SAS 软件 Bliss 法, 自行编制程序, 计算出红霉素纳米乳累积的 LD<sub>50</sub> 为 4 567 mg/kg, 其范围在 4 361~4 772 mg/kg 之间。回归方程为  $y = 0.5523x + 3.3825$ ,  $r = 0.976$ 。

## 3 结论与讨论

红霉素纳米乳口服液 LD<sub>50</sub> 为 4 567 mg/kg, 根据 WHO 于 1977 年颁布的化学物质的急性毒性分级标准 [剧毒 (LD<sub>50</sub> < 1 mg/kg)、高毒 (1~50 mg/kg)、中毒 (51~500 mg/kg)、低毒 (501~5 000 mg/kg) 和微毒 (5 001~15 000 mg/kg)<sup>[7-8]</sup>] 可知, 红霉素纳米乳属于低毒级药物。目前已报道的红霉素肠溶片的口服半数致死量 (LD<sub>50</sub>) 为 2 930~3 110 mg/kg, 虽然也属于低毒级药物, 但红霉素纳米乳与其相比进一步降低了

收稿日期: 2013-06-04

作者简介: 芮亚培 (1981—), 女, 硕士, 讲师, 主要从事新兽药开发方面的研究。E-mail: 294624605@qq.com。

通信作者: 邱 刚, 硕士, 讲师, 主要从事兽医药理及毒理方面的研究。E-mail: 421916413@qq.com。

表 1 红霉素纳米乳急性毒性试验结果

组别	20 g 体重的剂量 (mL)	折算后的剂量 (g/kg)	小白鼠死亡数(只)/总数(只)						
			1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d
正常组	—	—	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24
生理盐水组	0.4	—	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
	0.5	—	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
	0.6	—	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
	0.4	20.00	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
空白纳米乳组	0.5	25.00	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
	0.6	30.00	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
	0.4	0.20	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	1/8
红霉素纳米乳组	0.5	0.25	1/8	1/8	1/8	1/8	1/8	1/8	2/8
	0.6	0.30	2/8	2/8	2/8	2/8	2/8	2/8	4/8

红霉素的毒性。这与文献[9-11]中报道的纳米乳剂型能降低药物毒性的观点一致。本试验发现,小白鼠  $LD_{50}$  达到 4 567 mg/kg 时死亡,对其进行解剖,结果发现小白鼠胃肠鼓胀,除此之外并未发现内脏病变或其他病理特征,说明小白鼠的死亡可能是由药物某方面的因素引起胃肠鼓胀造成的。

急性毒性试验是在一次染毒条件下研究化学物质的毒害作用,是卫生毒理学试验研究的第一步,其主要任务是在短时间内阐明该物质的急性毒性作用特点,例如:进入肌体的途径,中毒作用的表现和中毒症状、局部刺激的有无、中毒剂量和致死剂量(剂量和生物反应的关系)等。急性毒性试验也是亚急性毒性和慢性试验必不可少的准备工作,是进一步深入研究的重要依据。同时,急性毒性试验是毒理学中最基础的工作,它是阐明新药或新制剂毒性所必需的步骤。它还阐明对人和动物的急性危害性质和危害强度,也为亚急性毒性试验和慢性毒性试验提供接触剂量依据<sup>[12]</sup>。急性毒性试验中,选用半数致死剂量为药物的最主要指标,在于该方法简单、重复性及稳定性良好;同时,该指标是一个统计量,受多种因素(如试验动物种属、品系、性别、年龄、受试化合物的浓度、稀释溶剂的性质、试验者操作的熟练程度和饲喂条件等)的影响<sup>[6]</sup>。本研究选用 1 月龄 18~22 g 昆明系小白鼠(雌雄各半),尽量保持试验条件一致。在对化学物质进行哺乳动物急性毒性研究时,由于所用动物数量较多,常用小动物(如大鼠、小鼠),这些动物具有成本低、易得和操作较简便的特点。在毒性研究中常用的染毒方法是经消化道染毒,包括灌胃法和吞咽法。与吞咽法相比,灌胃法更方便、更常用<sup>[12]</sup>。本研究制备的红霉素纳米乳具有较低的口服毒性,适合用于口服给药。

(上接第 91 页)

#### 参考文献:

- [1] 庄巧生. 中国小麦品种改良及系谱分析[M]. 北京:中国农业出版社,2003:469-487.
- [2] 张勇,程顺和,张伯桥,等. 优质、抗病小麦新品种扬麦 11 的选育及应用[J]. 作物杂志,2001(1):45-46.
- [3] 张容,何震天,陈秀兰,等. 高产高抗条花叶病小麦新品种扬辐麦 4 号丰产稳产广适性分析[J]. 江苏农业科学,2009(6):130-131.
- [4] 陆成彬,张伯桥,高德荣,等. 抗赤霉病小麦新品种扬麦 18 的选

#### 参考文献:

- [1] 芮亚培,欧阳五庆,邱刚,等. 红霉素纳米乳的制备及其药效学研究[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2008,36(3):59-63.
- [2] 何庆,夏忠玉. 冰片口服制剂安全性的试验研究[J]. 中国药师,2006,9(5):419-421.
- [3] 杨娜,张岫美. 罗红霉素干混悬剂的急性毒性试验[J]. 山东大学学报:医学版,2003,41(3):343-344.
- [4] 孙红武,欧阳五庆. 黄连素口服纳米乳的研制、质量及安全性评价[J]. 上海交通大学学报:农业科学版,2007,25(1):60-65.
- [5] 中药新药研究指南[M]. 北京:中华人民共和国卫生部药政管理局,1986.
- [6] 周立国. 药物毒理学[M]. 北京:中国医药科技出版社,2001.
- [7] Gohel M C, Amin A F. Formulation optimization of controlled release diclofenac sodium microspheres using factorial design[J]. Journal of Controlled Release,1998,51(2/3):115-122.
- [8] 王壮成,王世祥,蔡东兴,等. 应用乳酸环丙沙星配合催产素治疗奶牛慢性子宫内膜炎的临床观察[J]. 宁夏农林科技,2004(6):61-62.
- [9] 冯小花,周望平,向福生,等. 痢菌净纳米乳的制备及体外释放度测定[J]. 中国兽药杂志,2011,45(5):14-16.
- [10] 许莉莉,张俊伟,王杏林. 几种纳米载体的应用研究进展[J]. 中国新药杂志,2013,22(5):561-568.
- [11] 马千华. 抗肿瘤纳米中药制剂研究[J]. 鸡西大学学报:综合版,2012,12(8):155-156.
- [12] 许小成. 盐酸甲氧氯普胺注射液的研制[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2006.

育研究[J]. 中国农学通报,2010,26(10):146-148.

- [5] 陈俊才,周振元,孙敬东,等. 密度及氮肥运筹对弱筋小麦宁麦 13 号产量和品质的影响[J]. 江苏农业科学,2007(1):29-32.
- [6] 张晓,张勇,高德荣,等. 中国弱筋小麦育种进展及生产现状[J]. 麦类作物学报,2012,32(1):184-189.
- [7] 吴宏亚,朱冬梅,张伯桥,等. 江苏弱筋小麦品种表现及存在问题探析[J]. 中国农学通报,2006,22(10):169-172.
- [8] 程顺和,郭文善,王龙俊,等. 中国南方小麦[M]. 南京:江苏科学技术出版社,2012:29-34.
- [9] 程顺和,张伯桥,高德荣. 小麦育种策略探讨[J]. 作物学报,2005,31(7):932-939.