

刘磊,周绪正,李冰,等.伊维菌素微乳的急性毒性试验[J].江苏农业科学,2013,41(11):241-242.

伊维菌素微乳的急性毒性试验

刘磊^{1,2},周绪正¹,李冰¹,李金善¹,张继瑜¹

(1.甘肃农业大学动物医学院,甘肃兰州730070;

2.中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所/农业部兽用药物创制重点实验室/甘肃省新兽药工程重点实验室,甘肃兰州730050)

摘要:为阐明伊维菌素微乳的毒性,指导临床用药,对伊维菌素微乳制剂进行口服途径给药对小鼠和大鼠急性毒性试验,预试验中小鼠、大鼠一次性口服不同剂量的伊维菌素制剂,测定其最大耐受剂量(LD₀)、绝对致死量(LD₁₀₀),再根据简化寇氏法分组进行正式试验,测定半数致死量(LD₅₀)及其95%可信限。结果表明,小鼠口服伊维菌素微乳制剂的LD₅₀为6.09 g/kg,其95%可信限为5.14~7.29 g/kg;大鼠口服伊维菌素微乳制剂的LD₅₀为4.93 g/kg,其95%可信限为4.56~6.22 g/kg。按照LD₅₀剂量分级判定标准,伊维菌素微乳制剂对小鼠实际无毒,对大鼠有低毒。

关键词:伊维菌素;微乳;急性毒性;LD₅₀

中图分类号:R978.1;S854.5+2 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2013)11-0241-02

纳米乳作为一种新型药物载体,近年来受到国内外学者的广泛关注。纳米乳具有增加难溶性药物溶解度及提高药物稳定性和生物利用度等优点,许多难溶性药物制成纳米乳后具有缓释和靶向作用^[1]。伊维菌素(ivermectin, IVM)具有广谱、高效、用量小、安全等优点,对体内外寄生虫特别是线虫和节肢动物均具有高效驱杀作用^[2],对哺乳动物机体组织有更强的渗透性和安全性,持效期更长,特别适用于一般口服驱虫剂难以到达的肌肉、器官、特殊组织中的寄生虫防治^[3],对家畜胃肠道线虫、外寄生虫有特殊疗效^[4]。将伊维菌素制成脂质体作为药物载体可以提高药物的治疗指数,降低药物毒性,减少药物副作用,并具有延长有效血药浓度时间、减少药物用量等优点^[5]。该微乳为一种新型注射剂剂型,在传统醇类为溶剂的基础上,经过新制备工艺,其中80%以上的溶剂被水取代,其特点为物理稳定性好,提高了生物利用度,具有一定的靶向性,易于吸收,更加安全,毒性更低,刺激性更低,溶剂残留降低。本研究以《化学药物急性毒性试验技术指导原则》^[6]为指导,按照简化寇氏法对伊维菌素微乳制剂进行了急性毒性试验,旨在为该药的毒性研究和临床用药提供依据。

1 材料与与方法

1.1 材料

1.1.1 试验动物 昆明系小鼠(普通级)70只,雌雄各半,体重20~22 g,购于兰州大学实验动物中心,许可证号:SCXK(甘)2009-0004。Wistar大鼠(清洁级)70只,雌雄各半,体重180~220 g,购于兰州大学实验动物中心,许可证号:SCXK(甘)2009-0004。

实验室温度控制在18~22℃,相对湿度40%~70%,保持室内通风良好,雌雄分笼饲喂,笼底垫料为刨木花屑,经高压、阳光曝晒后使用,隔日清扫鼠笼一次,更换垫料并给鼠笼消毒。饲料为北京科澳协力饲料有限公司的大小鼠维持饲料。供试动物自由采食饲料,自由饮水,试验前临床观察7 d。

1.2 供试药品

伊维菌素注射液,规格为100 mL:1 g,透明液体制剂,中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所研制。

1.3 试验方法

1.3.1 预试验 取小鼠、大鼠各20只,每个试验组4只试验动物,雌雄各半,按序贯法进行预试验^[7]。一次性口服不同剂量的伊维菌素注射液,测定最大耐受剂量(LD₀)、绝对致死量(LD₁₀₀),分别作为正式试验的最高致死剂量(a)与最低致死剂量(b),并观察动物的毒副反应。

1.3.2 正式试验 根据预试验获得的最高致死量和最低致死量的比值对正式试验进行分组,共5组,每组试验动物10只,雌雄各半。给药后立刻观察小鼠的外观体征、饮食欲、行为活动、大小便、中枢神经系统症状、呼吸系统等情况,记录症状起始时间、严重程度、持续时间、死亡情况,给药后连续观察14 d。对在试验中死亡的动物以及试验结束时处死的动物进行解剖,对组织器官出现的体积、颜色等改变进行详细记录,若肉眼观察有异常现象时,则对该组织进行病理组织学检查。根据每组药物各剂量动物的死亡数,用简化寇氏法计算半数致死量(LD₅₀)及其95%可信限。

2 结果与分析

2.1 预试验

预试验结果表明,小鼠口服制剂的LD₀、LD₁₀₀分别为2.5、10 g/kg,大鼠口服制剂的LD₀、LD₁₀₀分别为2.5、8 g/kg。

2.2 正式试验

2.2.1 小鼠口服制剂 正式试验结果发现,小鼠口服制剂的LD₅₀为6.09 g/kg,LD₅₀的95%可信限为5.14~7.29 g/kg。由于LD₅₀值为5~15 g/kg,故实际上伊维菌素制剂对小鼠无毒。

收稿日期:2013-04-14

基金项目:国家现代农业肉牛牦牛产业技术体系建设专项(编号:CARS-38);国家科技支撑计划(编号:2012BAD13B00)。

作者简介:刘磊(1987—),男,山东青岛人,硕士研究生,研究方向为兽医药理学与毒理学。E-mail:marsll666@163.com。

通信作者:张继瑜,研究员,从事兽医药理学与毒理学研究。E-mail:infzjy@sina.com。

在小鼠口服制剂给药后,小鼠出现精神沉郁、弓背、被毛凌乱、抽搐、俯卧、呼吸急促、反应迟钝、饮食欲下降等症状。小鼠死亡时间出现在给药后3~7 d内。死后剖检可见,皮

下、腹膜、肠系膜充血;胃壁、空肠肠壁较薄,肠黏膜易剥落;肝颜色较暗,质地变脆,个别存在出血点;个别小鼠出现尿潴留现象。雄性小鼠和雌性小鼠的死亡率无显著性差异(表1)。

表1 小鼠口服伊维菌素制剂的正式试验结果

组别	剂量 (g/kg)	试验动物数 (只)	死亡数 (只)	雄性死亡数 (只)	雌性死亡数 (只)	成活数 (只)	死亡率 (%)	成活率 (%)
1	2.50	10	0	0	0	10	0	100
2	3.54	10	1	1	0	9	10	90
3	4.99	10	2	1	1	8	20	80
4	7.07	10	6	3	3	4	60	40
5	9.99	10	10	5	5	0	100	0

2.2.2 大鼠口服制剂 正式试验结果发现,大鼠口服制剂的LD₅₀为4.93 g/kg, LD₅₀的95%可信限为4.56~6.22 g/kg。由于LD₅₀值为0.5~5 g/kg,故伊维菌素制剂对大鼠低毒。在大鼠口服制剂给药后,大鼠出现弓背、被毛凌乱、抽搐、俯卧、呼吸急促、反应迟钝、饮食欲下降症状,个别出现腹泻等症状。

大鼠死亡时间出现在给药后2~7 d。多数大鼠在死亡时有鼻孔出血迹象,尸检剖检可见,腹膜、肠系膜充血;小部分大鼠肺部出现出血点且脾肿大;肝呈暗红色,质地变脆,极少数存在出血点;空肠肠壁变薄,部分出现尿潴留现象。雄性大鼠和雌性大鼠的死亡率无显著性差异(表2)。

表2 大鼠口服伊维菌素制剂的正式试验结果

组别	剂量 (g/kg)	试验动物数 (只)	死亡数 (只)	雄性死亡数 (只)	雌性死亡数 (只)	成活数 (只)	死亡率 (%)	成活率 (%)
1	2.50	10	0	0	0	10	0	100
2	3.32	10	1	1	0	9	10	90
3	4.42	10	3	1	2	7	30	70
4	5.88	10	7	3	4	3	70	30
5	7.82	10	10	5	5	0	100	0

3 结论与讨论

本研究以《化学药物急性毒性试验技术指导原则》为指导,用经典的急性毒性试验方法—半数致死量法获得受试物的LD₅₀,统计发现小鼠、大鼠的口服伊维菌素制剂的LD₅₀分别是6.09、4.93 g/kg。按毒性分级标准^[8]将伊维菌素微乳制剂判为对小鼠实际无毒物质,对大鼠有低毒性。据徐霞报道,由伊维菌素原粉制成的注射液对小鼠的LD₅₀为2.4 g/kg,说明该微乳比原药的安全性更高。

在口服给药时因为试验动物胃的内容物会影响受试物的给药容量,故小鼠和大鼠在给药前须禁食,自由饮水。啮齿动物禁食时间的长短会影响药物代谢酶的活性和受试物在肠道的吸收,故小鼠、大鼠在给药前严格禁食12 h,给药时间最好在上午。口服药品的急性毒性试验中,由于给药体积会影响药物吸收,从而影响动物死亡率,故本研究选择合适的给药体积,小鼠灌喂的药物体积为0.05~0.2 mL,大鼠灌喂的药物体积为0.5~1.6 mL。

在口服急性毒性试验中发生中毒反应的动物数量与给药剂量呈正相关,其死亡率不受性别影响。

参考文献:

- [1] Szebeni J, Alving C R, Savay S, et al. Formation of complement-activating particles in aqueous solutions of Taxol: possible role in hypersensitivity reactions [J]. *International Immunopharmacology*, 2001, 1(4): 721-735.
- [2] David W F. Analytical profiles of drug substances [J]. *Ivermectin*, 1988, 17: 155.
- [3] 马永铸, 魏春妹. 阿维菌素同系物和衍生物 [J]. *上海农业学报*, 2000, 16(增刊): 64-68.
- [4] 吴中兴, 钱益新. 伊维菌素的药效、药理和临床研究 [J]. *热带病与寄生虫学*, 2003, 1(3): 184-187.
- [5] 陈小军, 孙志良, 杨惠麟. 伊维菌素制剂在动物医学中的研究进展 [J]. *湖南畜牧兽医*, 2005(1): 1-3, 11.
- [6] 国家药物审评中心《化学药物急性毒性试验技术指导原则》课题研究组. 化学药物急性毒性试验技术指导原则 [S]. 2005.
- [7] 陈奇. 中药药理研究方法学 [M]. 2版. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 1-3.
- [8] 沈建忠. 动物毒理学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 1-3.