

1,2-丙二醇体内外安全性实验研究

盛云华¹, 冯红敏¹, 胡玥¹, 王宇¹, 郑赛晶², 天建华³, 唐黎明^{1*} (1.上海市食品药品检验所药理毒理室, 上海 201203; 2.上海新型烟草制品研究院, 上海 200082; 3.云南中烟工业有限责任公司, 昆明 650000)

摘要: 目的 从体内和体外分别考察 1,2-丙二醇气管内雾化给药局部刺激性、体外溶血性和细胞毒性, 初步评价 1,2-丙二醇吸入给药安全性。方法 取大鼠, 采用气管内雾化给药方式给予 30% 1,2-丙二醇 200 μ L, 连续 5 d, 评价 1,2-丙二醇吸入给药对肺部的局部刺激性; 采用体外试管法肉眼观察和紫外分光光度计法计算溶血率考察 1,2-丙二醇的溶血性; 采用 MTT 法研究 1,2-丙二醇对人肺腺癌细胞 A549、人支气管上皮细胞 16HBE、大鼠气管上皮细胞 RTE 的不良反应, 分别计算 IC_{50} 值。结果 1,2-丙二醇气管内雾化给药后, 动物出现极轻度的血管壁周围水肿, 极轻度到轻度的肺脏局部支气管内炎症细胞浸润, 溶剂对照出现极轻度到轻度的血管壁周围水肿。当 1,2-丙二醇浓度 $\geq 50\%$, 溶血试验肉眼观察发现, 温育 1 h 上层略偏红色, 温育时间延长, 颜色略加深, 3 h 温育结束, 发生溶血, 但未见凝聚现象; 采用紫外分光光度计法计算溶血率均 $>5\%$, 均有溶血发生。细胞毒性试验中, 1,2-丙二醇体积分数在 0.12%~10%, 对 A549、16HBE 及 RTE 的细胞不良反应存在一定的量效关系, 相关系数 R^2 值分别为 0.986, 0.989, 0.993, IC_{50} 分别为 2.538%, 2.015%, 1.983%。结论 气管内雾化给予 1,2-丙二醇对肺部刺激性较小, 肺部耐受性较好。浓度 $\geq 50\%$ 时, 可引起溶血。体积分数达到 2% 时, 1,2-丙二醇对 A549、16HBE 和 RTE 细胞有显著的不良反应。本研究为 1,2-丙二醇吸入途径应用的安全性提供了毒理学数据参考。

关键词: 1,2-丙二醇; 气管内雾化; 局部刺激; 溶血; 细胞毒性; 吸入

中图分类号: R965.3

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2019)19-2391-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.19.005

引用本文: 盛云华, 冯红敏, 胡玥, 等. 1,2-丙二醇体内外安全性实验研究[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(19): 2391-2396.

Study on *in Vivo* and *in Vitro* Safety of 1,2-Propylene Glycol

SHENG Yunhua¹, FENG Hongmin¹, HU Yue¹, WANG Yu¹, ZHENG Saijing², YAO Jianhua³, TANG Liming^{1*} (1.Division of Pharmacology and Toxicology, Shanghai Institute for Food and Drug Control, Shanghai 201203, China; 2.Shanghai New Tobacco Product Research Institute, Shanghai 200082, China; 3.China Tobacco Yunnan Industrial Co., Ltd., Kunming 650000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the local irritative response by intratracheal instillation, hemolysis and cytotoxicity of 1,2-propylene glycol(PG) *in vivo* and *in vitro*, and evaluate the inhalation safety of PG. **METHODS** Rats were administrated with 30% PG 200 μ L by intratracheal instillation once a day, followed by 5 d to evaluate the local irritation. The hemolysis rate of 1,2-propanediol was investigated by *in vitro* test tube visual observation and ultraviolet spectrophotometer. The toxic effects of PG on human lung adenocarcinoma A549, human bronchial epithelial cells 16HBE and rat tracheal epithelial cells RTE were studied by MTT assay, calculated IC_{50} value separately. **RESULTS** After intratracheal administration of PG, rats showed extremely mild perivascular edema and extremely mild to mild infiltration of inflammatory cells in bronchi. The control group showed extremely mild to mild perivascular edema. The upper layer of PG solution with concentration $\geq 50\%$ turned out to be red slightly after incubating 1 h, the color deepens as the incubation time increases. After 3 h incubation, hemolysis occurred, but no aggregation occurred. The hemolysis rate was calculated by the ultraviolet spectrophotometer method to be $>5\%$, and hemolysis occurred. There was a dose-effect relationship between the cytotoxicity on A549, 16HBE and RTE cells with varying volume fraction of PG concentration in the range of 0.12%~10%, R^2 values were 0.986, 0.989, 0.993, and IC_{50} were 2.538%, 2.015%, 1.983%, respectively. **CONCLUSION** PG is less likely to irritate in lung by intratracheal instillation with good pulmonary tolerance. Hemolytic reaction will be caused by PG with the concentration $\geq 50\%$. PG has obvious toxic effect on A549, 16HBE and RTE cells when the volume fraction reached 2%. All the above studies provide a supportive data for PG inhalation toxicity.

KEYWORDS: 1,2-propylene glycol; intratracheal instillation; local irritation; hemolysis; cytotoxicity; inhalation

1,2-丙二醇(1,2-propylene glycol, PG), 具有黏性、吸湿性及特殊的溶解性, 在医药、食品、化

妆品工业中得到了广泛的应用。PG 在医药工业中, 常用作制造各类软膏、油膏的溶剂、软化剂和赋

基金项目: 中国烟草总公司科技重大专项[110201501002(XX-02)]; 云南省烟草化学重点实验室 2017 年度开放基金项目(2017539200340398)

作者简介: 盛云华, 女, 博士, 主管药师 Tel: (021)38839900-26116 E-mail: yhsheng08@aliyun.com *通信作者: 唐黎明, 男, 硕士, 主任药师 Tel: (021)38839900-26111 E-mail: tangliming@smda.gov

形剂等；在食品工业中，主要用作食品乳化剂和调味品及色素的优良溶剂；在化妆品工业中，主要用作溶剂和软化剂等。除上述应用外，在烟草行业中，PG还可以作为烟草剂的吸湿剂和电子烟的溶剂。

在呼吸系统给药中，药物通常是溶解在水溶液中等渗的溶剂体系中，同时也会包含一些防腐剂、pH调节剂和助溶剂，其中助溶剂常采用少量的乙醇和PG。PG作为吸入制剂的辅料，常作为喷雾剂溶液体系中的助溶剂，在多剂量干粉剂型中常作为赋形剂。PG为二元醇类化合物，因为醇类化合物对肺部有一定的刺激性，因此PG用于吸入制剂辅料应当考察其对肺部的毒性，为PG在吸入制剂中的安全应用提供毒理学数据。另外，随着新兴电子烟的出现和流行，西方国家电子烟受到了儿童及青少年的追捧，但电子烟一般含有大量的PG，其长期吸入安全性受到了人们的日益关注。同时长期吸烟的烟民，肺部可能处于敏感状态，作为电子烟常用溶剂的PG安全性更值得关注和研究。

本研究采用气管内雾化给药的方式，考察吸入给药途径PG的肺部刺激性，可为其吸入安全性评价试验剂量设置提供参考，同时可以预测PG肺部毒性大小。另据文献报道PG在注射液中的应用比例范围10%~60%^[1]，应用的比例上限比较高，临床报道了含有PG的注射液出现溶血的不良反应^[2]。因此本研究考察PG体外溶血性，为以PG作为辅料的注射剂在临床上雾化吸入给药安全性评价提供毒理学参考。同时本研究通过MTT法考察PG对于人肺腺癌细胞A549、人支气管上皮细胞16HBE、大鼠气管上皮细胞RTE的不良反应，从体内和体外2个方面为PG在吸入途径中的应用提供安全性的数据。

1 材料

1.1 药物与试剂

PG[陶氏化学(中国)有限公司，批号：C815E3AC3T；规格：每桶15 kg]；氯化钠注射液[华裕(无锡)制药有限公司，批号：14050703；规格：100 mL：0.9 g]；纯水(纯水仪制备，自制)。

DMEM培养基、MEM培养基、磷酸盐缓冲液(PBS)、胰酶(Gibco公司，批号：1869020，1897268，1646085，1374941；规格：500，500，

500，100 mL)；胎牛血清(FBS)(Hyclone公司，批号：WBB0002；规格：500 mL)；四甲基噻唑蓝(MTT)粉末、DMSO均购自Sigma公司(批号：MKCC5045，SZBF0840V；规格：5 g，1 L)。

1.2 PG溶液的配制

局部刺激性试验：用氯化钠注射液配制30% PG溶液。

溶血性试验：用氯化钠注射液分别配制10%，30%，50%，70%和90% PG溶液。

细胞毒性试验：用无血清DMEM培养基(A549和16HBE细胞试验)和5% MEM培养基(RTE细胞试验)分别配制0.12%，0.25%，0.50%，1%，2%，4%，6%，8%，10% PG溶液。

MTT溶液的配制：取MTT粉末，使用当日用PBS配制成浓度为5 mg·mL⁻¹溶液，使用0.22 μm微孔滤器进行过滤，并在加入细胞前维持37℃。

1.3 仪器

Scope.A1 光学显微镜(Zeiss)；小动物麻醉机(VIP 3000)；Model IA-1B 雾化给药装置 Microsprayer (美国Penn Century)；Spraytec 喷雾粒度分析仪(英国Malvern)；ROTANTA 460R 高速冷冻离心机(德国Hettich)；KB240 BINDER 低温培养箱(德国Binder GmbH)；UV-2550 紫外分光光度计(日本岛津)；Millipore advantage A10 纯水仪(Millipore公司)；RM2255 轮转式切片机、Histo Core 组织包埋机、ASP6025 自动组织脱水机、ST5020 自动组织切片染色机(Leica)。

BCM-1300A 层流超净台(AIRTECH)；CO₂ 培养箱(Thermo Electron)；5810R 离心机(Eppendorf)；Vi-cell XR 细胞活力分析仪(Beckman Coulter)；SpectraMax 384 酶标仪(Molecular Device)；TS100-F 倒置相差数码显微镜(Nikon)。

1.4 动物与细胞

健康Wistar大鼠，8周龄，7♀8♂，共15只，体质量(200±20)g，购自上海斯莱克实验动物有限责任公司，生产许可证号：SCXK(沪)2017-0005。健康普通级♂新西兰兔，1只，体质量2.6 kg，购自上海科硕实验动物有限公司，生产许可证号：SCXK(沪)2017-0013。动物饲养房间的温度22~24℃，湿度31%~62%。

人肺腺癌细胞A549由复旦大学药学院赠予；

人支气管上皮细胞 16HBE 及大鼠气管上皮细胞 RTE 购自北京北纳创联生物(BNCC), 3 株细胞均置于 37 ℃恒温、5% CO₂ 的细胞培养箱中培养。

2 方法

2.1 肺部耐受性试验

Wistar 大鼠, 分为 2 组, 溶剂对照组(7 只, 4♂3♀)与 PG 组(8 只, 4♂4♀), PG 组采用气管内雾化给药方式给予 30% PG 溶液, 每次 200 μL, 溶剂对照组给予同体积氯化钠注射液, 每天给药 1 次, 连续 5 d。雾化 PG 溶液的粒径采用喷雾粒度分析仪检测。第 5 天给药结束后 24 h, 麻醉动物, 取肺、气管、咽喉部进行组织病理学检查。

2.2 体外溶血性试验

取家兔, 心脏采血 20 mL, 制备 2%兔红细胞混悬液。取洁净具塞试管 14 支, 分别为 10%, 30%, 50%, 70%和 90%的 PG 溶液管, 阴性对照管, 阳性对照管, 每个样品做 2 管。按表 1 所示依次加入 2%红细胞悬液、氯化钠注射液或纯化水, 最后加入 PG 溶液, 试管加塞, 并轻轻振摇使内容物混匀, 立即置 37 ℃的恒温箱中进行温育, 并开始计时。分别在温育后即刻, 15, 30, 45 min, 1, 2, 3 h 观察记录各组试管中的溶血情况。参照文献^{[3]131-132} 溶血判断方法判定 PG 的溶血性。3 h 观察结束后, 4 ℃条件下, 采用离心机 301×g, 离心 15 min 后, 取上清液, 采用分光光度计, 在 545 nm 处, 以纯水为空白, 读取各管的吸光度(OD)值。计算溶血率, 溶血率>5%表明有溶血发生^{[3]241-242}。

2.3 细胞毒性试验

2.3.1 细胞培养 A549 和 16HBE 细胞培养在含 10% FBS 的 DMEM 培养基中, RTE 细胞培养在含 20% FBS 的 MEM 培养基中, 于 37 ℃恒温、5% CO₂ 的细胞培养箱中培养。待细胞生长至 70%~80%时, 用 0.25%胰酶-EDTA 溶液消化传代, 细胞试验前已传 3~5 代。

2.3.2 MTT 法 取对数生长期的细胞进行试验, 接种当日, 分别用含 10% FBS 的 DMEM 培养液(A549、16HBE)和 20% FBS 的 MEM 培养液(RTE)制备细胞悬液。将密度约 $5.0 \times 10^4 \cdot \text{mL}^{-1}$ 的细胞悬液, 加入 96 孔培养板内, 每孔加 100 μL, 置于培养箱内培养(24±1)h。待细胞贴壁生长后, 加入不同体积分数的 PG, 每孔 100 μL, 使 PG 的最终体积分数为 0.12%, 0.25%, 0.50%, 1%, 2%, 4%, 6%, 8%, 10%。另设空白组(空白孔加入 100 μL PBS, 无细胞), 阴性对照组(加入等体积的不同细胞培养基), 每组设 5 个复孔。给药后细胞于 37 ℃恒温、5% CO₂ 的细胞培养箱中培养。

细胞培养(48±1)h 后, 倒置 96 孔板除去培养基, 吸水纸上吸干。每孔加入 100 μL 浓度为 $5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 MTT 溶液, 继续培养 4 h 后弃去孔内液体, 再加入 150 μL DMSO, 置振荡器上振荡 10 min。在酶标仪 490 nm(RTE、A549)和 570 nm (16HBE)测定 OD 值(参比波长为 630 nm)。

按照以下公式计算各组细胞抑制率。细胞抑制率(%)=(阴性对照组 OD 值-实验组 OD 值)/(阴性对照组 OD 值-空白组 OD 值)×100%。

2.4 统计学分析

应用 GraphPad Prism 6.02 软件进行数据分析, 获得 IC₅₀ 及 R² 值; 组间比较采用 SPSS 19.0 软件的 Kruskal-Wallis 检验分析, 以 P<0.05 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 肺部耐受性试验

采用喷雾粒度分析仪测定雾化 PG 溶液和氯化钠注射液的粒径, 分别为 36.85 μm 和 50.29 μm。

组织病理学检查结果显示, 溶剂对照组出现极轻度到轻度的血管壁周围水肿, PG 组出现极轻度的血管壁周围水肿, 极轻度到轻度的肺脏局部支气管内炎症细胞浸润。结果见表 2, 图 1。

表 1 溶血性试验各管加样量

Tab. 1 Volume added to the test tube in hemolysis study

组别	1,2-丙二醇										mL			
	10%		30%		50%		70%		90%		阴性对照		阳性对照	
2%红细胞混悬液	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
生理盐水	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2	2.5	2.5	-	-
蒸馏水	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.5	2.5
供试液	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	-	-	-	-

表 2 大鼠肺部耐受性试验组织病理学检查病变统计结果
Tab. 2 Rat lung tolerance test histopathological examination of lesion statistical results

组别	动物数	血管炎及血管周围炎		血管壁周围水肿		炎症细胞浸润	
		极轻度	轻度	极轻度	轻度	极轻度	轻度
溶剂对照组	7	0	0	4	2	0	0
1,2-丙二醇组	8	0	1	2	1	3	1

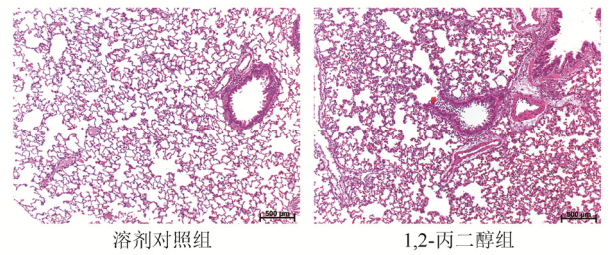


图 1 大鼠肺部耐受性试验组织病理学检查结果(HE, 100×)
Fig. 1 Histopathological examination results of rat lung tolerance test(HE, 100×)

3.2 体外溶血性试验

阴性对照管 3 h 观察期内未见溶血与凝聚现象产生; 阳性对照管呈溶血反应, 实验体系成立。不同浓度 PG 管温育后即刻, 15, 30, 45 min 观察, 均未见溶血现象产生, 50%, 70%和 90% PG 管均在温育后 1, 2, 3 h 观察到上层略偏红色, 温育时间延长, 颜色略加深, 3 h 温育结束, PG 管均未见凝聚现象。反应体系离心后读取各管 OD 值, 计算溶血率。10%和 30% PG 溶血率<5%, 无溶血发生, 50%, 70%和 90% PG 溶血率>5%, 均有溶血发生。结果见表 3。

表 4 1,2-丙二醇对不同细胞的增殖抑制率(n=5)
Tab. 4 Cell proliferation inhibition rate of 1,2-propylene glycol in different cells(n=5)

1,2-丙二醇 体积分数/%	A549			16HBE			RTE		
	抑制率/%	IC ₅₀ /%	R ²	抑制率/%	IC ₅₀ /%	R ²	抑制率/%	IC ₅₀ /%	R ²
0.12	8.2±5.4			-3.7±8.1			1.1±8.8		
0.25	13±3.5			-1.9±8.4			0.9±7.1		
0.50	12±7.1			-1.7±3.0			4.0±4.2		
1	19±2.8			14±5.8			9.6±4.2		
2	32±5.5	2.538	0.986	48±5.3	2.015	0.989	51±4.8	1.983	0.993
4	86±1.4			93±0.7			92±0.5		
6	92±0.6			95±0.3			97±0.2		
8	92±0.4			97±0.3			97±0.1		
10	94±0.6			97±0.3			98±0.2		

表 3 1,2-丙二醇溶血率检测结果
Tab. 3 Hemolysis rate test results of 1,2-propylene glycol

组别	OD 均值	溶血率/%	判定结论
阴性对照	0.041 0	—	—
阳性对照	1.900 2	—	—
10% PG	0.057 4	0.9	无溶血
30% PG	0.114 0	3.9	无溶血
50% PG	0.178 9	7.4	溶血
70% PG	0.211 6	9.2	溶血
90% PG	0.224 4	9.9	溶血

3.3 细胞毒性试验

PG 对 A549、16HBE 和 RTE 的 IC₅₀ 分别为 2.538%, 2.015%, 1.983%, 相关系数 R² 值分别为 0.986, 0.989, 0.993, 且在 0.12%~10%的体积分数范围内存在一定的量效关系。由 GraphPad Prism 6.02 软件拟合数据后获得的 IC₅₀、R² 值见表 4。

4 讨论

在吸入药物安全性评价研究中, 气管内滴注和吸入气溶胶是目前最主要的 2 种给药方式。气管内滴注可以使药物直接沉积到肺部, 既能保证给药剂量的精确性又能克服咽部或上呼吸道药物的损失, 可用于评价受试物的肺部耐受性, 即肺局部刺激性。

气管内给药可作为吸入试验剂量筛选工具, 为确定吸入试验合适剂量范围提供参考依据, 在比较不同化合物的相对毒性时, 不同浓度药物梯度可以提供一定的毒性信息参考, 亦可用于同类作用机制药物的毒性比较评级^[4]。在吸入急性肺部毒性研究中, 阿斯利康公司经常用单剂量干粉吸入暴露或气管内给药作为筛选候选化合物的第一

步^[5]。气管内雾化给药作为一种精准化的肺部给药方式，在吸入毒理研究中应用较为广泛。多篇文献报道气管内雾化给药方式，用于吸入药物的安全性和有效性的研究，比如 Gill 等^[6]研究紫杉醇肺部给药的剂型特性、组织分布、血浆药动力学和毒理学评价；Guilleminault 等^[7]研究吸入单克隆抗体西妥昔单抗呼吸道雾化微粒沉积的药动力学；Bai 等^[8]研究阳离子脂质体作为阴离子药物雾化剂型的载体安全性与有效性。

本实验室建立的大鼠气管内雾化给药操作流程^[9]，采用大鼠气管内微型雾化装置，不需要切开气管，对动物损伤小，重复性好，大鼠在异氟烷吸入麻醉状态下，借助小动物喉镜装置，有较好的咽部气管插管操作视野，雾化针头经口咽部到达支气管末端后经高压雾化药物，药物随即在两侧肺部较为均匀地分布，实现准确定量，完成气管内给药操作。该装置的可操作性强，对动物的损伤十分小，可以实现多次气管内重复给药，并使药物在肺部均匀分布。

本研究采用气管内雾化 PG 考察其局部刺激性。PG 是黏稠的液体，因此本研究采用雾化给药装置对一系列浓度梯度的 PG 进行雾化，结果发现 30% 是能完全雾化的临界浓度，因此本实验采用 30% 的 PG 进行气管内雾化的肺部耐受性试验，考察 PG 吸入途径的肺部刺激性。组织病理学检查结果显示，PG 给药后，小鼠出现极轻度到轻度的肺部炎细胞浸润，程度较轻，PG 对肺部的刺激性较小，肺部耐受性较好。本实验收集了大鼠支气管肺泡灌洗液，拟用于进一步的机制研究，病理检测中溶剂对照组与 30% PG 组出现的血管周围水肿，推测可能是由于肺泡灌洗操作引起的，与受试物无关。该结果提示 PG 吸入途径的肺部耐受性好，对肺部刺激性较小。

溶血是指红细胞遭破坏，血红蛋白从红细胞中逸出的现象。药物制剂的主药成分和辅料均可能有溶血性而导致溶血的发生^[10-12]。PG 作为中药注射剂常用辅料浓度在 30% 可引起人血溶血^[13]，其原因是 PG 进入细胞后引起渗透压的改变导致细胞骨架发生变化而产生溶血^[14]。

本实验对 PG 不同浓度的溶血性进行了考察，体外试管法在温育 1 h 观察时，50%，70% 和 90% PG 溶液相对于阴性对照，上清颜色略偏红，随着温育时间延长至 3 h，上述 3 个浓度的 PG 溶液上

清液红色略微加深，但与阳性对照组溶血的颜色差别较大，通过肉眼观察来判定是否溶血不是特别明确，因此本研究通过紫外分光光度计检测溶血率，结果显示，50%，70% 和 90% 的 PG 溶液溶血率 > 5%，进一步验证了以上 3 个浓度 PG 溶液的溶血性。本实验溶血反应体系中，浓度 50% PG 溶液，在 5 mL 溶血反应体系中加入 0.3 mL，按 PG 原液计为 0.15 mL/5 mL，文献报道的葛根注射液体外溶血性试验^[15]，辅料 PG 溶血性考察浓度为 20%，在 5 mL 反应体系中加入 1 mL，按 PG 原液计为 0.2 mL/5 mL，因此本实验考察 PG 溶血性用量低于文献，并且在本实验设计剂量下，当 PG 浓度 ≥ 50% 时出现溶血反应。溶血性试验的结果提示 PG 作为注射剂和吸入制剂的辅料或者电子烟的溶剂，通过吸入途径应用时，应选择合适的浓度，保证吸入途径的安全性。

体外试管法测定受试物溶血性是将受试物直接与红细胞接触，肉眼观察并判断受试物是否溶血。该方法受主观影响因素大，对于处于临界状态的溶血，难以判断是否溶血，同时对于有颜色的受试物，肉眼观察无法判断或者受试物颜色会干扰结果的判定。紫外分光光度计测定溶血率的方法，能降低主观因素的影响，较为客观地反映受试物的溶血性，可以作为常规体外试管法的补充和辅助方法，进一步验证受试物的溶血性。

为了更全面地评估 PG 吸入途径的体外安全性，本实验室选取来源于不同种属不同部位的 3 种呼吸道细胞株，A549、16HBE 及 RTE，采用 MTT 法研究 PG 对这 3 种细胞株的体外细胞毒性。体外细胞试验研究结果表明，当体积分数达到 2% 时，PG 会对 3 种细胞株产生显著的不良反应，且不良反应在 0.12%~10% 体积分数范围内存在一定的量效关系，随着体积分数的增加，PG 对细胞的毒作用增强。因此该结果提示，PG 用于吸入途径应选择最佳的体积分数，以避免 PG 带来的不良反应。

本实验目前正在建立气溶胶暴露的吸入细胞毒性试验研究方法^[16]，细胞通过气液界面培养，受试物雾化形成气溶胶与细胞表面接触，更好地模拟人呼吸道细胞与外源性化合物气溶胶暴露的状态，可以更全面地评估 PG 吸入途径的安全性。本实验对 PG 从体内气管内雾化给药考察肺部刺激性和体外溶血性及细胞毒性，初步对其吸入途

径的安全性进行了评估。PG 吸入对肺部刺激性较小, 安全性较好, 当浓度 $\geq 50\%$ 时, 会引起溶血反应, 对不同种属不同部位来源的呼吸道细胞株, 当浓度达到 2% 会引起细胞毒性。PG 用于吸入途径的全面安全性评估及其应用限值还需要作深入的系统研究, 当含有 PG 作为辅料的注射剂临床采用雾化吸入给药时, 更应该关注其应用安全性。

REFERENCES

- [1] 罗明生, 高天惠. 药剂辅料大全[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 1993: 300-302.
- [2] 张岚. 莜术油注射液的不良反应及原因分析[J]. 中国医药指南, 2012, 10(17): 608-610.
- [3] 国家食品药品监督管理局. 药物研究技术指导原则[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2005, 131-132, 241-242.
- [4] HENDERSON R F. Use of bronchoalveolar lavage to detect respiratory tract toxicity of inhaled material [J]. Exp Toxicol Pathol, 2005, 57(Suppl 1): 155-159.
- [5] OWEN K. Regulatory toxicology considerations for the development of inhaled pharmaceuticals [J]. Drug Chem Toxicol, 2013, 36(1): 109-118.
- [6] GILL K K, NAZZAL S, KADDOUMI A. Paclitaxel loaded PEG(5000)-DSPE micelles as pulmonary delivery platform: formulation characterization, tissue distribution, plasma pharmacokinetics, and toxicological evaluation [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2011, 79(2): 276-284.
- [7] GUILLEMINAULT L, AZZOPARDI N, ARNOULT C, et al. Fate of inhaled monoclonal antibodies after the deposition of aerosolized particles in the respiratory system [J]. J Control Release, 2014(196): 344-354.
- [8] BAI S H, GUPTA V, AHSAN F. Cationic liposomes as carriers for aerosolized formulations of an anionic drug: safety and efficacy study [J]. Eur J Pharm Sci, 2009, 38(2): 165-171.
- [9] LI W, SHENG Y H, HANG A, et al. Intratracheal atomization of lipopolysaccharides induced lung inflammatory injury in rats model [J]. Chin Pharm J(中国药理学杂志), 2017, 52(6): 457-461.
- [10] FIUME Z. Final report on the safety assessment of Lecithin and Hydrogenated Lecithin [J]. Int J Toxicol, 2001, 20(Suppl 1): 21-45.
- [11] CAI W H, YAO C L, JU M L, et al. Determination of lysolecithin and *in vitro* hemolysis of propofol nano-injection [J]. Chin Pharm J(中国药理学杂志), 2013, 48(3): 212-215.
- [12] HAYASE N, SATOMI M, HARA A, et al. Protective effects of quinaprilat and trandolaprilat, active metabolites of quinapril and trandolapril, on hemolysis induced by lysophosphatidylcholine in human erythrocytes [J]. Biol Pharm Bull, 2003, 26(5): 712-716.
- [13] 侯惠民. 药用辅料应用技术[M]. 上海: 中国医药科技出版社, 2002: 32-33.
- [14] GREEN F A, JUNG C Y, CUPPOLETTI J, et al. Hypertonic cryohemolysis and the cytoskeletal system [J]. Biochim Biophys Acta, 1981, 648(2): 225-230.
- [15] HOU S Z, LI G, LIANG Y M, et al. Experimental study on *in-vitro* hemolytic effect of puerarin injection [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol(中药新药与临床药理), 2011, 22(3): 289-291.
- [16] FENG H M, HU Y, SHENG Y H, et al. Application progress of *in vitro* cell exposure test in inhalation toxicology [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2019, 36(5): 617-624.

收稿日期: 2019-01-09
(本文责编: 沈倩)