

## · 论著 ·

## 吲哚美辛乳剂对皮肤刺激性和过敏性研究

郭敏,周波,乔红群,白文霞,刘晶(南京工业大学江苏省药物研究所,江苏省药物安全性评价中心,江苏南京210009)

**[摘要]** 目的 考察吲哚美辛乳剂的皮肤刺激性和皮肤过敏性,为临床安全用药提供依据。方法 采用新西兰白兔进行皮肤刺激性实验,分为完整皮肤组和破损皮肤组,每组8只。采用同体左、右侧自身对比法,左侧给予吲哚美辛乳剂0.5g,右侧给予等量空白乳剂,连续给药14d。实验期间观察皮肤刺激反应,每组6只于末次给药后72h处死,取皮肤做组织病理检查,剩余2只于末次给药后14d取皮肤做病理检查。采用豚鼠进行皮肤过敏实验,于第0、7、14天给予吲哚美辛0.5g局部诱导,第28天在未给药豚鼠的肋腹部皮肤给予吲哚美辛0.4g以局部激发。结果 吲哚美辛乳剂对兔正常皮肤和破损皮肤均有轻微刺激性,但停药后可恢复,对豚鼠皮肤无过敏反应。结论 吲哚美辛乳剂在临床上不宜长期使用,需重点观察皮肤刺激性。

**[关键词]** 吲哚美辛;皮肤;刺激性;过敏性

**[中图分类号]** R971.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2016)04-0324-04

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1006-0111.2016.04.010

## Study on skin irritation and allergenicity by indomethacin emulsion

GUO Min, ZHOU Bo, QIAO Hongqun, BAI Wenxia, LIU Jing (Jiangsu Provincial Institute of Material Medica, Jiangsu Center for Safety Evaluation of Drugs, Nanjing 210009, China)

**[Abstract]** **Objective** Study on skin irritation and allergenicity of indomethacin emulsion, in order to provide theoretical basis for clinical safe medication. **Methods** New Zealand white rabbits were used to test skin irritation, given 0.5g test substance for 14 days. The skin irritation was observed in the two groups with eight rabbits each during the experiment. Six rabbits in each group were sacrificed 72 hours after the last medication and skin tissues were taken for histopathology examination; and the skin tissues of remaining two rabbits were taken for histopathology examination in 14th day after the last medication. Guinea pigs were used to test skin allergenicity, given 0.5g test substance on day 0, 7, 14 for local induction. On day 28, the animal subjects were given 0.4g test substance on non-administration skin of guinea pigs for local excitation. **Results** Slight irritation of indomethacin emulsion on normal or damaged skin was observed but it is reversible after withdrawal for rabbits. Sensitization effect on the skin of guinea pig was not found. **Conclusion** Indomethacin emulsion is not suitable to long-term use clinically, and skin irritation need to pay more attention.

**[Key words]** indomethacin; skin; irritation; allergenicity

吲哚美辛属非甾体抗炎药,具有强效的镇痛抗炎药理作用,以往制剂均为口服,但其对胃肠道有较大的刺激性,易引起腹痛、上消化道溃疡等不良反应<sup>[1]</sup>。为克服其全身用药的不良反应,加之其经皮渗透系数大,近来被较多制成外用制剂局部使用,可使炎症局部获得较高的药物浓度从而发挥疗效<sup>[2]</sup>。已有临床资料表明,复方吲哚美辛酊会导致面部皮肤干燥,连续使用4~5d症状可消失<sup>[3]</sup>,但关于吲

哚美辛局部毒性研究仅限于皮肤刺激性的肉眼观察评价结果,缺少组织病理检验的支持。本研究按照临床前研究指导原则及相关文献<sup>[4-6]</sup>,对吲哚美辛乳剂进行皮肤刺激性和豚鼠Buehler实验以全面评价其局部毒性,为临床安全用药提供参考。

## 1 材料

**1.1 药物与仪器** 吲哚美辛乳剂(批号:8IFK01,临床拟一次用1.5~2g,2~3次/d)和空白乳剂(批号:IND-PL 070209),均由江苏省药物研究所提供;阳性药采用2,4-二硝基氯代苯(批号:200901281,上海试剂一厂)。ST4040自动染色机、EG1140C自动脱水机、EG1140H自动包埋机均购

**[作者简介]** 郭敏,硕士,助理研究员。研究方向:药物安全性评价。Tel:13913940586;E-mail: guomin821108@126.com

**[通讯作者]** 刘晶,副教授。研究方向:药理毒理学。Tel:(025)83285226;E-mail:jansens@foxmail.com

自 Leica ,BX41 光学显微镜(日本 OLYMPUS)。

## 1.2 实验系统

**1.2.1 动物** 新西兰白兔 16 只(雌雄各半),体重 2.4~2.7 kg;豚鼠 40 只(雌雄各半),体重 284~317 g,均取自南京市江宁区青龙山动物繁殖场,动物许可证号:SCXK(苏)2007-0008。

**1.2.2 饲养条件** 动物饲养于江苏省药物安全性评价中心 10 万级屏障系统,新西兰白兔单笼饲养,豚鼠 5 只/笼,动物室温度:18~28℃;湿度:40%~70%;照明:15~20 Lux(明、暗各 12 h);噪音:60 dB 以下;换气次数:10~18 次/h。

## 2 方法与结果

**2.1 皮肤刺激性实验** 新西兰白兔分为完整皮肤组和破损皮肤组,每组 8 只(雌雄各半),采用同体左、右侧自身对比法。实验前 24 h 对给药区进行脱毛处理,左、右侧各一块,去毛范围 3 cm×3 cm。破损皮肤组在用药部位划“井”字,以渗出血为度。左侧脱毛处涂供试品吡喹啉美辛乳剂 0.5 g,右侧涂等量空白乳剂作对照,用封闭片覆盖固定,贴敷时间 4 h,1 次/d,连续 14 d。贴敷结束后除去供试品,并用温水清洁给药部位。每次涂药前、除药后 1 h 以及末次敷贴除药后 24、48、72 h 分别观察涂药处皮肤有无红斑、水肿。按表 1、2 进行皮肤刺激性评价,计算观察期内每天每只动物的刺激积分均值<sup>[4-6]</sup>。每组 6 只于末次给药后 72 h 处死,同时取皮肤做组织病理学检查,每组剩余 2 只于末次给药后 14 d 取皮肤做病理学检查。每天的动物刺激积分均值采用 SPSS13.0 统计学软件进行 Ridit 分析。

表 1 皮肤刺激反应评分标准

红斑反应	分值	水肿反应	分值
无	0	无水肿	0
轻度(勉强可见)	1	轻度水肿(勉强可见)	1
中度(明显可见)	2	中度水肿(明显隆起)	2
重度	3	重度水肿(皮肤隆起 1 mm,轮廓清楚)	3
紫红色红斑到轻度焦痂形成	4	严重水肿(皮肤隆起>1 mm,并有扩大)	4

表 2 皮肤刺激强度评价标准

分值	评价
0.00~0.49	无刺激性
0.50~2.99	轻度刺激性
3.00~5.99	中度刺激性
6.00~8.00	强刺激性

新西兰白兔皮肤反复多次涂敷吡喹啉美辛乳剂,肉眼观察结果见表 3,完整皮肤组空白对照一侧无异常,给药一侧皮肤于第 2~9 天均见不同程度的红斑和水肿,皮肤变干燥、无弹性,脱皮后皮肤发亮、菲薄,但只有第 2、3、6、7、8 天的红斑均值与对照侧相比有统计学差异( $P<0.01$ ),水肿均值与对照侧无统计学差异,给药 9 d 后基本恢复正常;破损皮肤组空白对照一侧无异常,给药一侧于第 4~10 天出现红斑和水肿,第 11 天起恢复正常,第 4~9 天的红斑均值与对照侧相比有统计学差异,详见表 3,水肿均值与对照侧无统计学差异。镜下检查结果显示,完整皮肤组空白对照一侧无异常病变,给药一侧真皮血管轻度扩张充血,有炎症细胞浸润,炎症细胞类型主要为中性粒细胞、嗜酸性粒细胞及单核巨噬细胞浸润。破损皮肤组空白对照一侧无异常病变,给药一侧真皮血管轻度扩张充血,有炎症细胞浸润,炎症细胞类型主要为中性粒细胞、嗜酸性粒细胞及单核巨噬细胞浸润(表 4,图 1、2)。结果表明,吡喹啉美辛乳剂对兔皮肤组织有轻微刺激性。经过 14 d 恢复期后,两组 4 只动物给药侧、对照侧的皮肤组织病理检查均无异常。

表 3 皮肤刺激性红斑/水肿积分评价均值( $n=8$ )

观察时间 (t/d)	完整皮肤组		破损皮肤组	
	对照侧	给药侧(红斑/水肿)	对照侧	给药侧(红斑/水肿)
1	0/0	0/0	0/0	0/0
2	0/0	0.75**/0.50	0/0	0/0
3	0/0	1.00**/0.38	0/0	0/0
4	0/0	0.50/0.38	0/0	0.75**/0.50
5	0/0	0.50/0	0/0	1.88**/0.25
6	0/0	1.00**/0.38	0/0	2.13**/0
7	0/0	0.75**/0.25	0/0	1.38**/0
8	0/0	0.75**/0	0/0	1.50**/0
9	0/0	0/0	0/0	0.63*/0
10	0/0	0/0	0/0	0.13/0

\*  $P<0.05$ , \*\*  $P<0.01$ ,与对照侧比较

表 4 皮肤刺激性病理检验病变动物数( $n=8$ )

组别	血管扩张、充血				炎症细胞浸润			
	-	+	++	+++	-	+	++	+++
完整皮肤组								
对照侧	8	0	0	0	8	0	0	0
给药侧	5	3	0	0	2**	5**	1**	0
破损皮肤组								
对照侧	8	0	0	0	8	0	0	0
给药侧	5	2	1	0	2**	4**	2**	0

\*\*  $P<0.01$ ,与对照侧比较;根据损害的轻重程度记为“+”,“++”,“+++”,无损害记为“-”

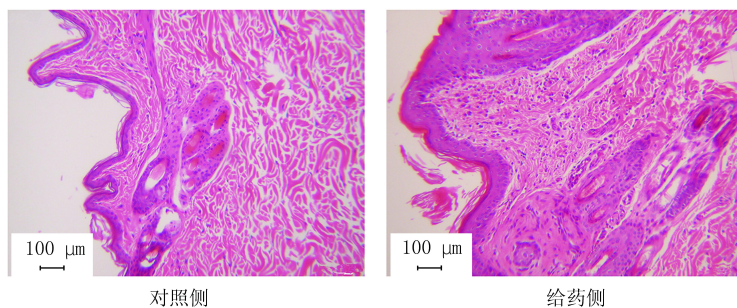


图1 完整皮肤组

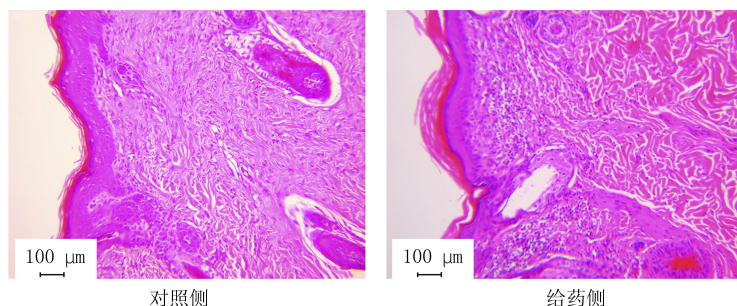


图2 破损皮肤组

**2.2 Buehler 实验** 豚鼠 40 只分为 3 组:给药组 20 只、空白对照组 10 只及阳性对照组 10 只(雌雄各半),背部给药区进行脱毛处理。在实验的第 0、7、14 天分别用封闭片局部给药以诱导,于第 28 天在未给药豚鼠的肋腹部贴药 6 h 以局部激发。阳性组给予 2,4-二硝基氯代苯溶液(用无水乙醇配制)。具体剂量见表 5。于致敏后 1、24 h 和激发后 24、48 h 内观察皮肤过敏反应情况,按表 6 对红斑和水肿进行评分,计算过敏反应发生率,根据表 7 判断过敏强度<sup>[4-6]</sup>。每次观察的积分均值采用 SPSS13.0 统计学软件进行 Ridit 分析。

在致敏 0、7、14 d,吡啶美辛乳剂给药组、空白对照组及阳性对照组均未出现红斑和水肿。致敏阶段

表5 吡啶美辛 Buehler 实验剂量设计

给药时间	给药组剂量	阳性组剂量
第 0、7、14 天	0.5 g	1% 2,4-二硝基氯代苯 0.2 ml
第 28 天	0.4 g	0.1% 2,4-二硝基氯代苯 0.2 ml

表6 皮肤反应评分标准

红斑反应程度	积分	水肿反应程度	积分
无红斑	0	无水肿	0
轻微可见红斑	1	轻度水肿	1
中度红斑	2	中度水肿	2
严重红斑	3	严重水肿	3
水肿性红斑	4		

表7 皮肤分级与致敏强度

致敏率(%)	分级	皮肤致敏性评价标准
0~8	I	弱致敏性
9~28	II	轻度致敏性
29~64	III	中度致敏性
65~80	IV	强致敏性
81~100	V	极强致敏性

给药组动物皮肤均出现轻微的红斑,激发后 48 h 观察,吡啶美辛乳剂给药组和空白对照组均未见红斑和水肿;阳性对照组 10 只动物均出现红斑和水肿,致敏率 100%,有极强致敏性,具体各组积分均值结果见表 8。

### 3 讨论

吡啶美辛乳剂在给药初期会导致肉眼可见的皮肤刺激性,给药 10 d 后症状消失,但停药 3 d 后的组织病理学检查发现,给药侧的完整皮肤和破损皮肤均有轻微炎症,停药 7 d 可恢复,实验中未见空白制剂对兔皮肤的明显刺激。有报道显示,吡啶美辛家兔皮肤刺激性实验未见水疱、溃烂等现象<sup>[7]</sup>。也有研究采用豚鼠进行皮肤刺激性研究,观察结果表明,吡啶美辛乳膏对豚鼠完整皮肤和破损皮肤均无刺激性<sup>[8]</sup>。以上两项研究结果均为阴性,这可能是由于均采用单次给药,且无病理组织检验结果的支持。

(下转第 347 页)

件下测定药物含量。本实验测定米诺生发搽剂中米诺地尔的含量时,辅料对米诺地尔的测定存在严重干扰,故采用一阶导数光谱峰谷法成功消除了辅料的干扰,该方法准确性高,精密度和回收率均符合要求。不仅可以用于测定米诺生发搽剂中米诺地尔的含量,也可为米诺地尔其他制剂分析提供参考。

### 【参考文献】

[1] 曹蕾,王磊,杜旭峰,等. 雄激素性秃发治疗研究进展[J]. 临床皮肤科杂志, 2015, 44(2):129-132.  
[2] 叶艳婷,曹慧,李水凤,等. 5%米诺地尔治疗33例女性型脱发治疗前后的临床和皮肤镜检查[J]. 临床皮肤科杂志, 2014, 43(12):739-741.  
[3] 邓伟. 外用米诺地尔治疗女性雄激素性脱发的系统评价

[J]. 四川医学, 2012, 33(2):261-264.  
[4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2010年版一部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2010: 附录VI B, 附录VA.  
[5] 刘宁. 消栓口服液的薄层色谱法鉴别研究[J]. 药物分析杂志, 2008, 28(11):1937-1939.  
[6] 张晓明,何晓英. 冠心康颗粒质量标准研究[J]. 中国药事, 2010, 24(4):380-382.  
[7] 孟德胜,傅若秋,吴畏. 5%米诺地尔搽剂的制备及稳定性[J]. 药学服务与研究, 2010, 10(3):189-190.  
[8] 朱利霞,张张扬,杨春云,等. 白鲜皮药材的质量标准研究[J]. 中华中医药学刊, 2015, 33(1):155-159.  
[9] 谢苗,蓝海. 天然药物分析方法的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2014, 42(29):10059-10062, 10065.

[收稿日期] 2015-08-23 [修回日期] 2016-02-26  
[本文编辑] 李睿旻

(上接第326页)

表8 豚鼠 Buehler 实验在观察时间内出现红斑/水肿的积分评价均值

组别	第0天		第7天		第14天		第28天	
	1 h	24 h	1 h	24 h	1 h	24 h	1 h	24 h
空白对照组	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
阳性对照组	0.7**/0	0.4/0	0.7**/0	0.5/0	0.6*/0	0.3/0	1.4**/1.3**	1.2**/1.2**
给药组	0.8**/0	0.5*/0	0.6**/0	0.4/0	0.4/0	0.2/0	0/0	0/0

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , 与空白对照组比较

本实验结果表明,吡罗美辛乳剂多次给药对兔皮肤有轻微刺激性,但停药14 d后可恢复。非甾体抗炎药的作用机制主要是通过抑制前列腺素(PGs)环氧化酶,阻止花生四烯酸转化为PGs而产生抗炎、止痛和解热作用<sup>[9]</sup>。环氧化酶有2种同工酶,即COX-1和COX-2,其中COX-2受外源物诱导后可促进组织大量合成致炎性PGs,引起组织的炎症反应。吡罗美辛属于COX-1抑制剂<sup>[9]</sup>,多次给予吡罗美辛导致兔皮肤组织中COX-1减少,是否会造成COX-2相对增多,进而引发了皮肤组织炎症反应,尚需进一步研究其作用机制。实验结果提示吡罗美辛临床用药疗程不宜过长,并且需重点观察皮肤刺激性。

豚鼠 Buehler 实验应以产生轻微刺激性的剂量作为致敏剂量,以不产生刺激性的最高剂量作为激发剂量<sup>[4,6]</sup>,预实验中,每只豚鼠给予吡罗美辛0.2、0.3、0.4、0.5 g,结果表明0.5 g可产生轻微的红斑,0.2~0.4 g对豚鼠皮肤均无刺激性,故实验选择0.5 g作为豚鼠 Buehler 实验的致敏剂量,0.4 g作为激发剂量。实验结果为阴性,表明吡罗美辛乳剂不会引起豚鼠的皮肤过敏反应,为其临床安全使用提供了支持。

### 【参考文献】

[1] Mozafari MR, Omri A. Importance of divalent cations in nano-lipoplex gene delivery[J]. J Pharm Sci, 2007, 96(8): 1955-1966.  
[2] Chow TH, Lin YY, Hwang JJ, et al. Diagnostic and therapeutic evaluation of 111 in-vinorelbine-liposomes in a human colorectal carcinoma HT-29/luc-bearing animal model[J]. Nucl Med Biol, 2008, 35(5): 623-634.  
[3] 潘菽浪. 用复方吡罗美辛酊治疗面部化妆品接触性皮炎[J]. 贵阳医学院学报, 2005, 30(3): 266  
[4] 光红梅,王庆利,王海学. 解读《药物刺激性、过敏性和溶血性研究技术指导原则》[J]. 中国新药与临床杂志, 2015, 34(9): 700-702  
[5] 陈小平,王志旺,刘彩民,等. 荣骨定痛膏皮肤刺激性与皮肤过敏性实验研究[J]. 甘肃中医学院学报, 2015, 32(3):7-9.  
[6] 徐叔云,卞如谦,陈修. 药理实验方法学[M]. 3版. 北京:人民卫生出版社, 2002.  
[7] 路绪文,康才,苏芳. 复方吡罗美辛搽剂的研制与临床疗效观察[J]. 中国药业, 2002, 11(7): 60-61.  
[8] 李艳春,马恩龙,王敏伟. 4%与1%吡罗美辛乳膏的镇痛抗炎作用比较[J]. 中国医院药学杂志, 2004, 24(10): 626-627.  
[9] 王海为,李剑勇,杨亚军,等. 非甾体抗炎药物研究进展[J]. 动物医学进展, 2011, 32(1):77-80.

[收稿日期] 2015-01-21 [修回日期] 2016-03-04  
[本文编辑] 李睿旻