

- [7] 迪力木拉提·阿不都克依木, 马国芳, 王丽, 等. 某高校医学类成人高等教育网络教学资源应用现状[J]. 新疆医科大学学报, 2018, 41(12): 135-138.
- [8] 教育部. 教育部-卫生部关于加强医学教育工作提高医学教育质量的若干意见[J]. 卫生职业教育, 2009, 27(10): 5-6.
- [9] 吴雪飞, 刘丽红, 宋桂荣, 等. 网络学习平台在内分泌系统整合课程中的应用[J]. 基础医学教育, 2017, 19(6): 470-472.
- [10] 姜云, 陈光, 王莘, 等. 以精品课程为目标的网络教学的建设和开发[J]. 现代交际, 2013, 27(11): 246-246.
- [11] 邹鑫. 区域图书馆集群管理体系初探[J]. 图书馆, 2010, 38(1): 36-38.
- [12] 刘羽晨, 乔显亮. 水生生物急性毒性 QSAR 模型研究进展[J]. 生态毒理学报, 2015, 10(2): 26-35.
- [13] 赵亚玲, 黄方. QSAR 方法的研究进展及其应用[J]. 毒理学杂志, 2017, 31(3): 233-238.

(收稿日期: 2019-04-23)

中图分类号: R994.6 文献标识码: B 文章编号: 1002-3127(2019)05-0424-04

• 安全性评价 •

右旋布洛芬栓兔直肠黏膜刺激和豚鼠主动皮肤过敏研究

孙鸽¹, 李梅¹, 申江², 张亚娟¹, 岳娟¹, 李建国¹, 乔玉峰²

(1. 中国辐射防护研究院/药物毒理与放射损伤药物山西省重点实验室, 山西 太原 030006;

2. 山西迈迪制药有限公司, 山西 太原 030006)

关键词: 右旋布洛芬栓; 兔; 直肠黏膜; 刺激性; 豚鼠; 主动皮肤过敏性

DOI:10.16421/j.cnki.1002-3127.2019.05.019

发热是人体通过免疫系统抵抗感染的一个过程, 临床使用的退热制剂通常包括口服制剂、栓剂和注射剂等, 其中布洛芬通过抑制前列腺素的合成, 用药后快速发挥解热、镇痛和消炎作用且安全性好, 广泛应用于儿童高热时的退热^[1]。右旋布洛芬是布洛芬的纯空间对映异构体, 将其制备成口服混悬液或栓剂用于退热具备更好的安全性和有效性^[2-3]。根据原国家食品药品监督管理局颁布的《药物刺激性、过敏性和溶血性研究技术指导原则》, 对于非口服的局部使用药物制剂, 须开展局部毒性安全性评价, 包括刺激性和过敏性试验等, 其中透皮吸收剂过敏性需进行主动皮肤过敏试验^[4]。本研究对一种用于小儿退热的右旋布洛芬栓剂开展兔直肠黏膜刺激和豚鼠主动皮肤过敏试验, 并与已上市的小儿布洛芬栓对比, 对其刺激性和过敏性进行研究, 为临床儿童用药安全提供参考。

1 材料与方法

1.1 受试物与对照品 受试物为右旋布洛芬栓, 乳白色弹头形栓剂, 山西迈迪制药有限公司生产, 规格为每粒含右旋布洛芬 50 mg, 批号: 731789。已上市对照品

为小儿布洛芬栓, 乳白色弹头形栓剂, 由湖北东信药业有限公司生产, 规格为每粒含布洛芬 50 mg, 批号: 170102。辅料对照品成份为混合脂肪酸甘油酯, 白色或类白色蜡状固体弹头形栓剂, 由嘉兴明生生物科技有限公司生产, 批号: 20170606; 主动过敏试验除采用以上受试物、已上市对照品(小儿布洛芬栓)和辅料对照品外, 其阴性对照组采用纯化水, 由 NW20VF 超纯水系统制备, 阳性对照品为 2,4-二硝基氯苯, 由天津市光复精细化工研究生产; 阳性对照品溶剂为丙酮, 由北京化工厂生产。

1.2 动物 直肠黏膜刺激试验采用雌性日本大耳白兔 16 只, 普通级, 5~7 月龄, 体重 2.0~3.0 kg, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 生产许可证号: SCXK(京)2015-0001, 实验前经过中国辐射防护研究院实验动物伦理委员会审查, 编号: CIRP1945。主动皮肤过敏试验采用普通级 Hartley 白化豚鼠 60 只, 雌雄各半, 约 90 日龄, 体重范围 300~400 g, 激发平均体重约 500 g, 由北京市昌扬西山养殖场提供, 生产许可证号: SCXK(京)2016-0007, 实验前经过中国辐射防护研究院实验动物伦理委员会审查, 编号: CIRP1946。

1.3 动物饲养 兔和豚鼠分别饲养于普通区动物实验室, 室温 16~26℃, 相对湿度 40%~70%, 12 h 照明, 12 h 黑暗; 自由饮水和摄食, 饲料采用北京科澳协

作者简介: 孙鸽, 硕士, 助理研究员, 研究方向: 药物毒理学研究与评价。
通讯作者: 乔玉峰, 硕士, 副主任药师, 研究方向: 药物研发。

力饲料有限公司生产的兔维持饲料(批号为 17074211)和豚鼠生长繁殖饲料(批号为 17075121)。

1.4 仪器设备 NW20VF 超纯水系统(香港力康生物医疗科技公司),BS124S 电子天平(赛多利斯科学仪器上海有限公司),Excelsior 全自动脱水机(美国 Thermo Scientific 公司),Histocentre 3 组织石蜡包埋机(美国 Thermo Scientific 公司),Finesse325 石蜡切片机(美国 Thermo Electron Corporation),BX53 显微成像系统(日本 Olympus 公司)。

1.5 实验方法

1.5.1 直肠黏膜刺激试验:(1) 动物分组: 动物检疫 1 周后,将检疫合格的 16 只日本大耳白兔根据体重分段随机均衡法分为 4 组: 空白对照组、辅料对照组、小儿布洛芬栓组和右旋布洛芬栓组。

(2) 剂量设计: 根据药物临床使用说明,3 岁以内儿童每次用量为 1 粒即 50 mg,以 3 岁儿童平均体重约为 14 kg 进行计算^[5],即临床单次拟用剂量约为 3.6 mg/kg·bw,试验设小儿布洛芬栓组和右旋布洛芬栓组每只兔每次直肠 1 粒即 50 mg,兔平均体重为 2.6 kg,平均药物剂量为 19.2 mg/kg·bw,相当于临床单次剂量的 5.3 倍,辅料对照组同样每次每只动物给予 1 粒,不含药物,剂量为 0,空白对照组仅以软质塑料棒蘸取少量甘油模拟给药操作,考察重复操作可能引起的机械刺激性。

(3) 试验方法: 参照《药物毒理学实验方法与技术》等^[6-7]。固定动物,将药物塞入肛门,以软质塑料棒蘸取少量甘油将药物向直肠深处插入约 6 mm,轻轻拉出塑料软棒,垫高兔尾部少许,空白对照组不塞入药物,仅以塑料软棒同样做插入刺激,给药后动物保定时间不少于 30 min 再放回笼内。给药 2 次/d,2 次间隔 4~6 h,间隔期间禁食,连续给药 7 d,每次给药前对动物一般状况及肛周区域有无充血、水肿、动物临床表现(如疼痛症状)和异常分泌物(如血、粘液),进行肉眼观察。给药结束 24 h 后剖检动物,取肛周组织及直肠,大体观察是否存在充血、水肿或坏死等症状,并开展组织病理学制片和检查,依据黏膜刺激病理评分标准对上皮细胞病变、炎细胞浸润程度、充血、水肿进行评分,4 项病理评分的加和为动物直肠黏膜组织的刺激反应分值,计算该组个体刺激反应的平均分值,根据平均分值得以表 1 标准评估直肠黏膜刺激程度^[8]。

1.5.2 主动皮肤过敏试验:(1) 动物分组: 动物检疫 1 周后,将检疫合格的豚鼠根据体重分段随机均衡分为阴性对照组、阳性对照组、辅料对照组、小儿布洛芬

表 1 黏膜刺激分级标准

反应评分总和	分 级
0~4	无
5~8	轻度
9~11	中度
12~16	重度

栓组、右旋布洛芬高剂量组和低剂量组,10 只/组,雌雄各半。

(2) 根据药物临床使用说明,3 岁以内儿童每次用量为 1 粒 50 mg,每天不超过 4 次,以 3 岁儿童平均体重约为 14kg^[5]进行计算,临床每日(4 次)最大剂量为 14.3 mg/kg·bw。设定右旋布洛芬低剂量组和高剂量组以充分考察其致敏性,低剂量组为每只动物 1/3 粒即 16.7 mg(激发阶段豚鼠平均体重约 500 g,剂量为 33 mg/kg·bw,为临床每日最大剂量的 2.3 倍),高剂量组为每只动物 1 粒即 50 mg(激发阶段豚鼠平均体重约 500 g,给药剂量为 100 mg/kg·bw,为临床每日最大剂量的 7.0 倍);阴性对照组采用纯化水 0.2 ml/只,阳性对照组采用 1% 2,4-二硝基氯苯 0.2 ml/只致敏及 0.1% 2,4-二硝基氯苯 0.2 ml/只激发,辅料对照组不含药物,1 粒/只。

(3) 试验方法参照《药物刺激性、过敏性和溶血性研究技术指导原则》^[4]。提前 1 d 对豚鼠背部左侧脱毛处理,给药时以 40℃ 水浴将辅料对照、小儿布洛芬栓、右旋布洛芬分别融化为液态,分别涂抹至动物脱毛区域,覆盖硫酸纸,以医用胶带固定,涂抹 6 h 后,去除胶带并以温水清洗。试验第 0、7 和 14 天分别致敏 3 次,末次致敏后第 14 日于动物背部另一侧脱毛区进行激发,激发阶段,将药物清洗后 1、24、48 和 72 h 观察每只动物的皮肤水肿或红斑程度及全身过敏反应并评分^[3]。根据表 2 评价受试物皮肤过敏反应程度。

表 2 皮肤过敏反应评价标准

过敏反应发生率(%)	皮肤过敏反应强度
0~10	弱致敏性
11~30	轻度致敏性
31~60	中度致敏性
61~80	高度致敏性
81~100	极度致敏性

1.3 统计学方法 应用 SPSS 13.0 软件对数据进行统计分析。体重数据以 $\bar{x} \pm s$ 形式表示,两组间比较采用 *t* 检验,直肠黏膜刺激性试验病理评分结果采用非参数 Kruskal Wallis 检验进行统计分析, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 直肠黏膜刺激性试验 试验期内各组动物肛周区域均未观察到红肿、异常分泌物等刺激性症状。解剖取材时,各组动物肛周及直肠给药部位均未见充血、水肿等异常。试验结束 辅料对照组、小儿布洛芬栓组和右旋布洛芬栓组动物平均体重虽有下降,但与空白对照组比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。

病理检查结果显示,对于肛周区域,空白对照组有 3 例、辅料对照组 1 例、小儿布洛芬栓组 2 例、右旋布洛芬栓组 2 例出现直肠黏膜固有层少量嗜酸性炎细胞浸润以及个别动物黏膜轻度水肿;对于直肠药物作用部位,图 1A 显示直肠正常黏膜组织,与正常组织相比,空白对照组有 3 例出现黏膜固有层少量嗜酸性炎细胞浸润及轻度水肿(图 1B,病理评分为 3 分);辅料对照组有 1 例出现黏膜固有层少量嗜酸性炎细胞浸润及极少水肿(图 1C,病理评分为 2 分);小儿布洛芬栓组 1 例出现黏膜固有层少量嗜酸性炎细胞浸润(图 1D,病理评分为 1 分);右旋布洛芬栓组 1 例出现黏膜固有层少量嗜酸性炎细胞浸润及轻度水肿(图 1E,病理评分为 3 分)。经计算,各组平均分均小于 4 分(表 3),为无刺激范围。另统计表明,空白对照组与各处理组病理结果差异无统计学意义(肛周区域 $\chi^2 = 1.531$, $P = 0.675$; 直肠药物作用部位 $\chi^2 = 3.215$, $P = 0.360$)。

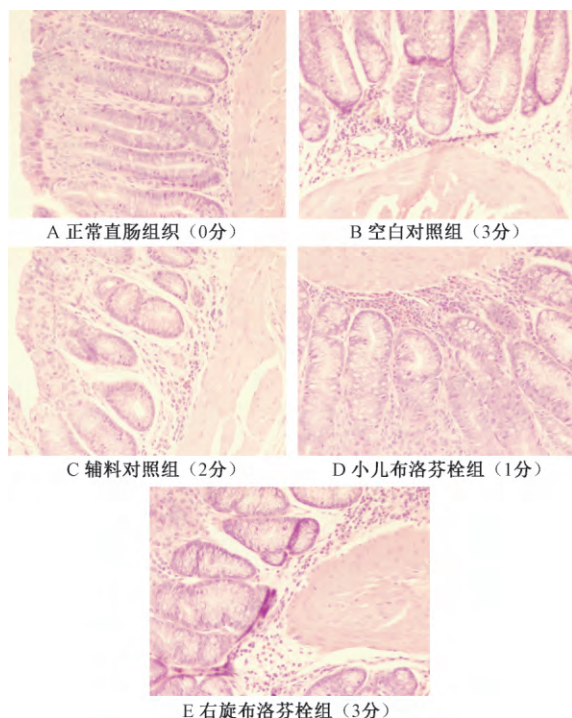


图 1 各组兔直肠药物作用部位病理变化及评分(HE×200)

表 3 直肠黏膜刺激性试验组织病理学检查结果($n=4$)

组别	肛周区域病变例数				直肠药物作用部位病变例数				总分	平均分
	0分	1分	2分	3分	0分	1分	2分	3分		
空白对照组	1	3	0	0	1	0	0	3	12	3.00
辅料对照组	3	1	0	0	3	0	1	0	3	0.75
小儿布洛芬栓组	2	0	1	1	3	1	0	0	6	1.50
右旋布洛芬栓组	2	1	0	1	3	0	0	1	7	1.75

2.2 豚鼠主动皮肤过敏性试验 每次致敏后,阳性对照组动物给药区域皮肤均观察到轻至中度红斑,且逐渐出现皲裂和结痂,激发前均恢复,其它各组动物均未见异常。激发阶段,阳性对照组所有动物于激发后 1 h 即出现轻度、中度红斑或轻度水肿,至 72 h 恢复,阳性率 100%。除阳性对照组外其他各处理组动物给药部位皮肤均未见红斑、水肿等异常,且未见全身过敏反应,结果见表 4。

表 4 主动皮肤过敏性试验激发结果($n=10$)

组别	阳性率(%)	皮肤过敏反应强度
阳性对照组	0	弱致敏性
阳性对照组	100	极度致敏性
辅料对照组	0	弱致敏性
小儿布洛芬栓组	0	弱致敏性
右旋布洛芬高剂量组	0	弱致敏性
右旋布洛芬低剂量组	0	弱致敏性

3 讨论

小儿布洛芬栓和右旋布洛芬栓均采用混合脂肪酸甘油酯作为辅料,在体内约 30 min 能够完全融化,其有效成分通过直肠黏膜吸收^[9]。试验设置空白对照组和辅料对照组,以排除给药时的机械刺激并评价辅料对照是否具有刺激性,根据药物临床使用情况对兔进行多次直肠给药,结果显示,连续给药 7 d 辅料对照组、小儿布洛芬栓组和右旋布洛芬栓组兔体重与空白对照组差异无统计学意义,表明辅料对照栓、小儿布洛芬栓、右旋布洛芬栓均未对动物体重产生明显影响,而动物在 8 d 试验期内出现的体重增长缓慢和轻微下降现象与每天给药间隔 4~6 h 进行撤食相关,但观察结果表明动物一般状态未受影响。病理学检查结果显示,栓剂塞入时对肛门和直肠可能产生重复给药操作引起轻微的机械刺激,在病理结果中表现为各组均有直肠黏膜固有层少量嗜酸性炎细胞浸润或轻度水肿,平均分均小于 4,均为无刺激性,结合统计结果,表明小儿布洛芬栓和右旋布洛芬栓均未产生药物相关性直肠刺激。

主动皮肤过敏性试验采用豚鼠开展,豚鼠比人的

皮肤过敏反应敏感,在豚鼠身上强过敏者在人身上引起过敏反应的可能性很大,而在豚鼠身上弱过敏者有可能或不会在人身上引起过敏反应^[6]。本次试验结果阴性对照组致敏率为 0,阳性对照组致敏率为 100%,提示试验系统可靠。辅料对照组未见过敏反应发生,排除辅料对照品的过敏性。相关布洛芬注射剂的过敏试验结果表明布洛芬静脉给药后除可引起豚鼠和大鼠短暂昏迷外均未见其他全身或皮肤过敏反应^[10],此次试验结果显示小儿布洛芬栓组和右旋布洛芬栓组亦未出现皮肤过敏和全身过敏反应。

儿科用药在药物剂型选择、剂量选择、局部刺激和过敏反应等方面必须充分考虑其安全性和有效性^[11]。对于小儿高热难以口服药物时,采用退热栓直肠给药,操作简单安全,可迅速吸收药物达到降温效果,且有效降低药物引起的胃肠道不良反应,在徐艳梅^[12]对小儿退热栓的有效性和安全性研究中亦有报道。本次实验条件下,右旋布洛芬栓对兔直肠黏膜无刺激性,对豚鼠皮肤无致敏性,局部毒理研究结果符合安全性要求,为开发安全有效的小儿退热栓剂提供参考。

参考文献

- [1] 曹俏春. 布洛芬两种剂型治疗儿童发热的疗效和安全性对比分析[J]. 当代医学, 2015, 21(21): 144-145.
- [2] 师美玲,王磊,范宝宝. 两种右旋布洛芬制剂对儿童高热的退热疗效观察及评价[J]. 中国药物与临床, 2017, 17(2): 246-247.
- [3] Bonabello A, Galmozzi MR, Canaparo R, et al. Dexibuprofen (S(+)-isomer ibuprofen) reduces gastric damage and improves analgesic and antiinflammatory effects in rodents[J]. Anesth Analg, 2003, 97(2): 402-408.
- [4] 原国家食品药品监督管理局. 药物刺激性、过敏性和溶血性研究技术指导原则[S/OL]. (2014-05-13). <http://samr.cfda.gov.cn/wsol/CL1616/101018.html>.
- [5] 卫生部妇幼保健与社区卫生司. 中国 7 岁以下儿童生长发育参照标准[S/OL]. (2009-09-25). <http://www.nhtpc.gov.cn/fys/s7906/200910/99407fbc.shtml>.
- [6] 袁伯俊,廖明阳,李波,等. 药物毒理学实验方法与技术[M]. 北京:化学工业出版社, 2007: 238-256.
- [7] 戴小宇,朱海,冯秀娟,等. 龙血竭栓对兔直肠破损黏膜刺激性和对豚鼠皮肤致敏性实验[J]. 解剖学杂志, 2015, 38(3): 288-291.
- [8] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会,GB/T 16886.10-2017 医疗器械生物学评价第 10 部分:刺激与迟发型超敏反应试验[S]. 北京:中国标准出版社, 2018.
- [9] 林文辉. 手性药物布洛芬的体内药物动力学研究[D]. 沈阳:沈阳药科大学, 2004.
- [10] 岳鹏,蔡鸣,刘晶,等. 布洛芬注射液单次给药毒性和局部毒性研究[J]. 毒理学杂志, 2012, 26(2): 152-154.
- [11] 金丹,田春华,杨月明,等. 儿童用药安全现状及政策研究与思考[J]. 中国药事, 2015, 29(4): 427-431.
- [12] 徐艳梅. 小儿退热栓治疗小儿感冒发热的疗效和安全性[J]. 临床医学研究与实践, 2016, 1(22): 76-78.

(收稿日期: 2018-12-17)

DOI:10.16421/j.cnki.1002-3127.2019.05.021

• 读者 • 作者 • 编者 •

本刊重要启示

近期,有读者和作者反映,在互联网上出现假冒本刊的在线投稿网站,提供虚假邮箱,误导作者投稿,以快速出刊为诱饵,骗取版面费等相关费用。以上行为已经给读者和作者造成重大损失,并损坏本刊的声誉,对这种极其恶劣的非法侵权行为,本刊保留追究造假者法律责任的权利。在此本刊郑重声明,到目前为止,本刊唯一指定投稿邮箱为 dulixuezz@163.com。本刊投稿目前需要将稿件发送至上述邮箱,别无其他投稿方式。请广大作者仔细辨析,谨防上当。

本刊编辑部