

· 毒理 ·

## 生脉注射液(新工艺)致 Beagle 犬类过敏反应实验研究

何萍<sup>1</sup>, 李峰杰<sup>1</sup>, 唐仁茂<sup>2</sup>, 李贻奎<sup>1\*</sup>, 郝伟<sup>1</sup>, 丛旭东<sup>2</sup>, 余学钊<sup>1</sup>, 曹苏闽<sup>2</sup>

(1. 中国中医科学院西苑医院实验研究中心, 北京 100091;  
2. 江苏苏中药业集团股份有限公司, 江苏泰州 225500)

**[摘要]** 目的:对新、旧两种工艺生产的生脉注射液致 Beagle 犬类过敏反应的致敏性进行比较研究。方法:选用类过敏反应的敏感动物 Beagle 犬,随机分为 3 组,每组 3 只,分别注射 5% 葡萄糖注射液、旧工艺生脉注射液、新工艺生脉注射液。观察给药前至给药后 24 h 各犬的变化,根据反应症状轻重判定级别。给药前及停药后 10 min 取血,ELISA 方法检测血清组胺含量,并结合反应症状级别,综合判定药物的致敏性。结果:旧工艺生脉注射液导致 Beagle 犬出现典型的类过敏反应症状,且血清组胺升高 1 倍以上,综合判定旧工艺生脉注射液致 Beagle 犬类过敏反应为阳性;新工艺生脉注射液可诱发 Beagle 犬出现不典型的类过敏反应症状,血清组胺升高 1 倍以上,综合判定新工艺生脉注射液诱发 Beagle 犬类过敏反应为可疑。结论:旧工艺生产的生脉注射液可诱发 Beagle 犬出现典型的类过敏反应,其致敏性强。与旧工艺生脉注射液相比,改进工艺后的生脉注射液引发 Beagle 犬类过敏反应症状出现时间晚,程度轻,对 Beagle 犬的致敏性降低。

**[关键词]** 生脉注射液; Beagle 犬; 类过敏反应

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)17-0257-04

## Experimental Study on Anaphylactoid Reactions Induced by Shengmai Injection (New Production Process) on Beagle Dogs

HE Ping<sup>1</sup>, LI Feng-jie<sup>1</sup>, TANG Ren-mao<sup>2</sup>, LI Yi-kui<sup>1\*</sup>, HAO Wei<sup>1</sup>,  
CONG Xu-dong<sup>2</sup>, YU Xue-zhao<sup>1</sup>, CAO Su-min<sup>2</sup>

(1. Experimental Research Center of Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China; 2. Suzhong Yaoye Group Pharmaceutical Limited, Taizhou 225500, China)

**[Abstract]** **Objective:** To compare the sensitization effect of old Shengmai injection and new Shengmai injection on Beagle dogs. **Method:** Beagle dogs were randomly divided into 3 groups, 3 dogs in each group. Each group was injected with 5% glucose injection, old Shengmai injection and new Shengmai injection. The changes of each dog were observed from injection before and after injection until 24 hours, and the response level were determined according to the severity of the symptoms. Blood samples were collected before injection and at 10 min after injection for measuring histamine content in plasma by ELISA. Sensitization of the injection was comprehensively determined by combined the response level of symptoms and the histamine level. **Result:** The old Shengmai injection led to beagle dogs showing typical symptoms of anaphylactoid reactions and elevating serum histamine times. The old Shengmai injection caused Beagle dogs anaphylactoid reactionis was positive. The new Shengmai injection led to Beagle dogs showing untypical symptoms of anaphylactoid reactions and elevating serum histamine times. It caused Beagle dogs anaphylactoid reaction was suspicious. **Conclusion:** The old Shengmai injection can induce typical anaphylactoid reactions on beagle dogs, and the sensitization is strong. Compared with the old Shengmai injection, the symptoms of anaphylactoid reactions induced by the new Shengmai injection

**[收稿日期]** 20120326(013)

**[第一作者]** 何萍, 博士, 助理研究员, 从事中药药理学研究, Tel:010-62835614, E-mail:xiyuanheping@126.com

**[通讯作者]** \* 李贻奎, 博士, 副研究员, 从事中药药理学研究, Tel:010-62835606, E-mail:yikuili@yahoo.com.cn

appeared later and showed lesser degree. The sensitization to beagle dogs can bereduced.

[Key words] Shengmai injection; Beagle dogs; anaphylactoid reactions

生脉注射液是根据古方“生脉散”制成的中药注射剂,由红参、麦冬、五味子组成,收载于 2009 年版国家基本药物目录。主要功效为益气养阴,复脉固脱,用于气阴两亏,脉虚欲脱的心悸、气短、四肢厥冷、汗出、脉欲绝及心肌梗死、心源性休克,感染性休克等具有上述证候者。

近年来,有关生脉注射液不良反应的报道日渐增多。2012 年 1 月,国家药品不良反应监测中心发布第 44 期《药品不良反应信息通报》,通报显示 2004 年 1 月 1 日至 2011 年 9 月 30 日,国家药品不良反应监测中心病例报告数据库共收到生脉注射液严重不良反应/事件病例报告 508 例,其中严重病例报告中过敏性休克(90 例)和严重过敏样反应(89 例)共计 179 例,约占严重病例的 35.2%。不良反应/事件累及系统排名前三位的依次为全身性损害、呼吸系统损害、心血管系统损害<sup>[1]</sup>。对此,国家相关部门提醒应警惕生脉注射液的严重过敏反应,建议生产企业应尽快完善生脉注射液生产工艺、提高产品质量标准,并开展相应的安全性研究,以降低严重药品不良反应的发生,保障公众的用药安全。

本实验对改进工艺后的生脉注射液新制剂与原工艺制剂进行比较研究,探讨其是否减轻诱发 Beagle 犬类过敏反应,从而考察新工艺生脉注射液是否降低其致敏性,为保障该药在临床中安全应用提供参考。

### 1 材料

1.1 动物 Beagle 犬 9 只,雌性,体重 8~12.5 kg,由中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心提供,许可证 SCXK-(军)2007-004。

1.2 药物与试剂 旧工艺生脉注射液[聚氧乙烯山梨糖醇单油酸酯(吐温-80)含量为 0.4%],批号 09040604,规格 25 mL;新工艺生脉注射液(吐温-80 含

量降至 0.2%),批号 12021802,规格 5 mL;5% 葡萄糖注射液,批号 12013001-8,规格 500 mL,以上 3 种注射液均由江苏苏中药业集团股份有限公司提供。犬组胺 ELISA 试剂盒,购自北京博润莱特科技有限公司,上海西唐生物科技有限公司生产,批号 201202251。

1.3 仪器 AJ-5803 型电脑微量注射泵(上海安洁电子设备有限公司),IEC CL31R 离心机(美国 Thermo Fisher Scientific 公司),DENLEY DRAGON Wellscan MK 3 酶标仪(Thermo 公司)。

### 2 方法

2.1 分组 将犬随机分组,每组 3 只,共 3 组。分别为 5% 葡萄糖注射液对照组、旧工艺生脉注射液组、新工艺生脉注射液组。

2.2 剂量设计 生脉注射液成人(60 kg)临床用量 20~60 mL·d<sup>-1</sup>,选取 60 mL·d<sup>-1</sup> 计算得出 Beagle 犬临床等效剂量为 2 mL·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>,参考文献研究方法<sup>[2]</sup>,选择 8 mL·kg<sup>-1</sup> 为 Beagle 犬类过敏实验剂量,相当于人临床等效剂量的 4 倍。

2.3 实验方法 各组均 1 次性给药,给药容积为 8 mL·kg<sup>-1</sup>,采用电脑微量注射泵前肢静脉恒速注射(注射速度 5 mL·min<sup>-1</sup>)。观察给药前 15 min 至给药后 24 h 每只犬的变化,记录反应症状出现、消失时间。给药前及停药后 10 min 取血,制备血清。若试验过程中出现动物死亡,则立即进行解剖,肉眼观察各主要脏器有无明显异常,并对心、肝、脾、肺、肾、胸腺进行病理学检查。

### 2.4 观测指标

2.4.1 动物反应症状 犬类过敏反应的症状与试验操作、固定等因素导致动物惊恐、愤怒、挣扎、逃脱时出现的伴随表现很相似,两者易于混淆而造成误判。故将其表现分为典型症状、不典型症状及无症状 3 级(表 1)。

表 1 犬反应症状分级标准<sup>[3]</sup>

级别	症状
典型症状	<p>烦躁不安,撞墙撞笼,呻吟嘶叫,大量流涕、流涎,搔痒,皮肤黏膜潮红或红斑,巩膜充血,恶心、呕吐,口唇耳水肿,呼吸急促、困难,大小便失禁,甚至抽搐、昏迷、休克、死亡</p> <p>有多种(3 种以上)症状出现,持续 3 min 以上,并逐渐加重,甚至出现呼吸困难、昏迷或休克、死亡等严重后果者,判定为典型症状</p>
不典型症状	出现部分症状,且症状较轻,行为异常在 3 min 内消失,无严重后果者
无症状	无明显异常表现者

**2.4.2 生化指标** 采用双抗夹心法 ELISA 试剂盒检测血清中的组胺含量。

**2.4.3 综合判定** 结合动物反应症状级别与血清组胺含量变化情况,根据本课题组自拟“犬类过敏反应综合判定标准”(表 2),综合判定受试药液对犬的致敏性。

表 2 犬类过敏反应综合判定标准<sup>[3]</sup>

判定结果	判断指标
阳性	有典型症状,且血清组胺值升高 1 倍以上者
可疑	仅有典型症状,或仅有血清组胺值升高 1 倍以上者
阴性	无症状或症状不典型,且无血清组胺值升高 1 倍以上者

**2.5 数据处理** 计量数据均采用  $\bar{x} \pm s$  表示,两组之间的比较采用  $t$  检验,  $P < 0.05$  为有统计学意义。

### 3 结果

#### 3.1 对 Beagle 犬行为学的影响 5% 葡萄糖注射

表 3 开始给药后各组 Beagle 犬反应情况 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

组别	剂量 /mL·kg <sup>-1</sup>	症状	搔痒,烦躁不安,	皮肤黏膜潮红,	精神萎靡,	恶心、流涎,
			呻吟嘶叫	巩膜充血	双下肢无力	大便失禁
葡萄糖注射液	8	出现症状动物数/只	0	0	0	0
		出现时间/min	-	-	-	-
		持续时间/min	-	-	-	-
旧工艺生脉注射液	8	出现症状动物数/只	3	3	3	3
		出现时间/min	1.17 ± 0.29	1.17 ± 0.29	5.00 ± 1.73	24.33 ± 6.03
		持续时间/min	4.00 ± 1.73	35.70 ± 6.66	48.33 ± 2.89	17.67 ± 12.50
新工艺生脉注射液	8	出现症状动物数/只	3	3	0	0
		出现时间/min	3.17 ± 1.04 <sup>1)</sup>	5.50 ± 1.80 <sup>1)</sup>	-	-
		持续时间/min	16.00 ± 1.73 <sup>2)</sup>	30.67 ± 3.06	-	-

注:与旧工艺生脉注射液比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ 。

**3.2 Beagle 犬血清组胺的变化** 给药后旧工艺生脉注射液组、新工艺生脉注射液组 Beagle 犬血清组胺升高程度均达到 2 倍以上,给药后与给药前组胺

液对照组各犬均无明显异常表现。旧工艺生脉注射液组各犬在开始给药后 1 ~ 2 min 内均出现摇头,搔痒,烦躁不安,耳发红发热,巩膜充血等症状,4 ~ 5 min 后均出现精神萎靡,嗜睡,双下肢瘫软无力,活动减少或无活动,1 只犬在给药中出现恶心、流涎;给药结束后,各犬行动迟缓或四肢无力、瘫软不能行动,2 只犬大便失禁、排稀便,1 只犬仍恶心、呕吐涎沫。根据犬反应症状分级标准(表 1),判定为典型症状。新工艺生脉注射液组各犬在开始给药后 3 ~ 4 min 后表现为烦躁不安,摇头,搔痒,5 ~ 6 min 后出现耳发红发热,巩膜充血等症状,根据表 3 可以看出,各症状出现时间明显晚于旧工艺组 ( $P < 0.05$ )。给药过程中未出现精神萎靡,四肢无力,大便失禁等严重反应;给药结束后,犬活动如常,偶有摇头、甩耳等表现。总体反应症状程度轻于旧工艺组,根据犬反应症状分级标准(表 1),判定为不典型症状。见表 3。

差值  $t$  检验,血清组胺均高于 5% 葡萄糖注射液对照组 ( $P < 0.05$ )。新工艺组组胺升高程度略低于旧工艺组,但无显著性差异。见表 4。

表 4 各组 Beagle 犬给药前后血清组胺含量变化情况 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

组别	剂量 /mL·kg <sup>-1</sup>	药前组胺	药后组胺	后前差值	升高程度
		/μg·L <sup>-1</sup>	/μg·L <sup>-1</sup>	/μg·L <sup>-1</sup>	/%
5% 葡萄糖注射液对照	8	1.05 ± 0.36	1.55 ± 0.95	0.50 ± 1.26	76.2 ± 153.5
旧工艺生脉注射液	8	1.48 ± 0.19	5.82 ± 1.19	4.34 ± 1.01 <sup>1)</sup>	291.3 ± 35.0
新工艺生脉注射液	8	1.07 ± 0.41	3.72 ± 0.96	2.66 ± 1.10 <sup>1)</sup>	280.8 ± 169.1

注:后前差值 = 药后组胺 - 药前组胺;升高程度 = 后前差值/药前组胺 × 100%;与 5% 葡萄糖注射液对照组相比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ 。

**3.3 Beagle 犬类过敏反应综合判定** 根据表 2,结合各组 Beagle 犬给药后的反应症状及血清组胺含量变化情况,综合判定各组注射液对 Beagle 犬类过

敏反应的致敏性(表 5)。旧工艺生脉注射液可诱发 Beagle 犬出现典型的类过敏反应,致敏性强;新工艺生脉注射液诱发 Beagle 犬类过敏反应减轻。

表 5 各组 Beagle 犬类过敏反应综合判定结果 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	反应症状级别	血清组胺升高/%	判定结果
5% 葡萄糖注射液对照	无症状	76.2 ± 153.5	阴性
旧工艺生脉注射液	典型症状	291.3 ± 35.0	阳性
新工艺生脉注射液	不典型症状	280.8 ± 169.1	可疑

#### 4 讨论

近年来,中药注射剂引发的不良反应已引起广泛关注。在严重病例不良反应表现中,全身性损害占比例较高,主要表现为发热、寒战、过敏性休克、过敏样反应等,且过敏反应多在首次给药后即出现,属于类过敏反应。目前,学术界普遍认为 Beagle 犬反应症状与人类临床表现相似,且易观察,是类过敏反应的理想试验动物<sup>[4]</sup>。本课题组既往一系列实验,亦证实 Beagle 犬为较理想的类过敏实验动物<sup>[2]</sup>。因此,本课题组进一步提出犬类过敏反应症状分级标准,同时提出在判断受试药品对 Beagle 犬的类过敏反应时,必须将典型症状与血浆组胺升高程度结合进行综合判断以尽量避免假阳性。

本实验所用旧工艺生脉注射液中含有 0.4% 的吐温-80,新工艺生脉注射液是通过降低吐温-80 浓度并提高吐温-80 质量等工艺改进后生产所得。吐温-80 是一种亲水性表面活性剂,作为增溶剂广泛应用于中药注射剂中<sup>[5]</sup>。已有研究表明,吐温-80 是中药注射剂中诱发类过敏反应的主要物质<sup>[2,6]</sup>,吐温-80 浓度高于 0.5% 时,对过敏体质等特殊人群临床应用有一定风险,不可大意。若控制吐温-80 质量,并将吐温-80 浓度限定在 0.25% 或 0.3% 以下,可以在保证药物增溶效果同时明显减轻过敏及类过敏反应的发生,提高药物安全性<sup>[4,7]</sup>。实验结果显示,旧工艺生脉注射液组各犬在开始给药后很快即出现烦躁不安,巩膜充血等症状,且随给药量增多,症状不断加重,出现典型类过敏反应表现,给药后犬血清组胺升高程度达到 2 倍以上,综合判定为类过敏反应阳性。与旧工艺组相比,改进工艺后的新生脉注射液引发犬类过敏反应症状出现时间晚,程度轻,结合组胺升高程度,判定诱发 Beagle 犬类过敏反应为可疑。初步研究结果表明,改进工艺后的生脉注射液对 Beagle 犬的致敏性降低,通过改进生产工艺,适当降低增溶剂吐温-80 浓度,严格控制吐温-80 质量,可以使生脉注射液的安全性得到一定提高。

但观察实验结果,虽然新工艺组与旧工艺组比

较症状减轻,致敏性有所降低,但组胺升高程度与 5% 葡萄糖组比仍为 2 倍以上,类过敏反应为可疑。由于中药注射剂具有有效成分复杂、质量难于严格控制等特点,因此,下一步我们将对新工艺生脉注射液成分进行拆方研究,进一步探讨其致敏原因。

结合本课题组以往研究结果,本实验结果再次证实,严格控制中药注射剂中增溶剂吐温-80 的用量及质量,对提高中药注射剂用药安全性具有重要意义。此外,为确保中药注射剂安全、有效,必须从优化生产工艺,加强制剂的质量研究,提高产品质量标准等多方面入手。同时,广大医务人员在选择用药时,应严格掌握生脉注射液功能主治和禁忌症,详细了解患者用药史及过敏史,不盲目扩大适应证,规范药物合理配伍、稀释过程,避免多种中药注射剂混用及中药注射剂与化学药注射剂混用,对患者加强观察和监护,确保用药安全。

#### [参考文献]

- [1] 国家食品药品监督管理局. 警惕生脉注射液的严重过敏反应[J]. 药品不良反应信息通报, 2012, (1): 44.
- [2] 张美玉, 李贻奎, 张嘉, 等. 鱼腥草注射液过敏及类过敏反应研究[J]. 中国现代应用药学, 2009, 8(8): 611.
- [3] 孙伟伟, 李贻奎, 张金艳, 等. 聚山梨酯 80 及其配置的鱼腥草注射液致 Beagle 犬类过敏反应实验研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2011, 31(1): 90.
- [4] 梁爱华, 李春英, 郝然, 等. 用清醒 Beagle 犬进行中药注射液的类过敏试验方法研究[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(17): 2328.
- [5] 谭瑾, 宋民宪, 傅超美, 等. 中药注射剂标准中辅料的使用及含量测定指标的统计[J]. 华西药理学杂志, 2008, 23(3): 376.
- [6] 张嘉, 李贻奎, 李连达, 等. 鱼腥草蒸馏液与 3 种增溶剂配伍后对 Beagle 犬的致敏性[J]. 中国新药杂志, 2008, 17(17): 1494.
- [7] 孙伟伟, 李贻奎, 王乃捷, 等. 多种聚氧乙烯脱水山梨醇单油酸酯致 Beagle 犬类过敏反应的试验研究[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(14): 1874.

[责任编辑 聂淑琴]