

中药注射剂致敏反应的研究进展

章海风^{1,2}, 翟成凯^{2*}, 郑艳泽²

(1. 扬州大学营养系, 江苏 扬州 225001; 2. 东南大学公共卫生学院, 南京 210009)

[摘要] 目的: 探讨中药注射剂致敏反应实验研究概况, 为中药注射剂的研究及应用提供思路。方法: 概括归纳近年来国内外中药注射剂致敏性相关实验研究。结果: 中药注射剂的过敏性抗原物质尚不明确, 研究尚缺乏系统性, 对致敏因素、致敏模型的研究还处于摸索阶段。结论: 加强绿原酸及附加剂的抗原性研究, 建立致敏动物模型, 充分利用免疫化学和免疫芯片技术, 为中药注射剂的开发和应用, 提供新的研究思路。

[关键词] 绿原酸; 中药注射剂; 致敏反应

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2010)10-0204-03

Advancement of Experimental Studies on Sensitization Reactions of Traditional Chinese medicine Injections

ZHANG Hai-feng^{1,2}, ZHAI Cheng-kai^{2*}, ZHENG Yan-ze²

(1. Yangzhou University, Yangzhou 225001, China; 2. School of Public Health, Southeast University, Nanjing 210009, China)

[Abstract] Objective: To review the progress of sensitization reaction experiment research with Traditional Chinese medicine injections (TCMI). **Method:** The experimental studies on sensitization reactions of TCMI were summed up. **Result:** The result shows that the studies lack systematicness. The researches on allergic sensitization factors and sensitization model are still in the stage of exploration. **Conclusion:** To provide new ideas, the research on chlorogenic acid and additives antigen should be strengthened, the animal models of allergen and the techniques of immune-chemistry and immune-chip should be fully utilized for the development and application of TCMI.

[Key words] chlorogenic acid; traditional Chinese medicine injections; sensitization reaction

近年来, 随着中药注射剂在临床上不良反应病例的报道, 中药注射剂的安全性问题一直引起人们的广泛关注, 寻找致敏原, 建立高效、灵敏的致敏检测方法, 保证用药的安全性是亟待解决的问题。本文就现有的中药注射剂实验研究的成果进行综述, 为中药注射剂安全性研究提供思路。

1 绿原酸致敏性

绿原酸是植物体在有氧呼吸过程中经莽草酸途径产生的一种苯丙素类化合物, 在众多的中药注射剂中均存在,^[1-3] 有

着广泛的药理作用, 但它也是一种可疑的致敏物质。关于绿原酸致敏性的研究, 最早在 20 世纪 60 年代加拿大的 Freedman 小组和美国的 Layton 小组分别对其致敏性展开了研究, 对于其是否为致敏原确得出了截然相反的结论,^[4-6] 此后国外关于绿原酸基本无报道。国内研究多集中在近两年, 罗飞等^[7] 采用豚鼠全身主动过敏试验和大鼠被动皮肤过敏试验方法, 对不同纯度绿原酸提取物的致敏性试验, 认为绿原酸提取物出现的过敏反应与低纯度提取物中存在的大分子量组分密切相关, 与绿原酸及小分子类似物无关。冯文宇等^[8] 对不同提取纯化工艺制备的金银花提取物注射液进行免疫毒性试验, 也认为金银花粗提取物注射液出现类过敏反应的原因, 与注射液中含有蛋白质、树脂、鞣质等杂质有关, 而绿原酸、异绿原酸是致敏原的说法, 是值得商榷和进一步探讨的。因此, 对于绿原酸是否为变应原到目前尚无确切的定论。

2 更加敏感和多品系动物体内致敏性评价模型的实验研究
药物敏感的实验动物是进行中药注射剂过敏反应临床

[收稿日期] 20100107(007)

[基金项目] 中医药行业科研专项(200707008)

[第一作者] 章海风, 博士, 讲师, 研究方向: 营养与疾病, E-mail: y05zhf@163.com

[通讯作者] * 翟成凯, 教授, 博士生导师, Tel: 025-83272560, E-mail: zck@seu.edu.cn

前评价的前提,然而在目前已有的用于研究药物过敏反应的动物,如小鼠、大鼠、豚鼠和犬中,尚缺乏对药物过敏反应敏感的动物模型。^[9]尤其是目前尚无用于预测 I 型和 II 型过敏反应标准的非临床评价方法。因此,敏感动物品种的筛选、致敏性评价模型的建立,也是我们进行中药注射剂致敏研究中要解决的重要问题之一。张美玉等^[10]人通过试验建议 Beagle 犬的过敏及类过敏试验,应作为中药注射液致敏试验的必做实验。张嘉等^[11]对豚鼠、BN 大鼠、Beagle 犬等多种动物的敏感性进行了试验比较,结果表明 Beagle 犬对鱼腥草注射液导致的过敏反应很敏感,但试验成本高、条件要求较高。而在相同试验条件及给药剂量下未发现 BN 大鼠比豚鼠更敏感。孙立等^[12]用小鼠、Beagle 犬、豚鼠和恒河猴静脉注射不同剂量的吐温-80,发现 Beagle 犬对过敏反应最敏感,注射后体内碱性粒细胞迅速升高,可能是其中的一个毒性作用机制。冯文宇等^[13]在犬和猴两种不同种属的动物体内,分别静注或静滴 0.35% 吐温-80 溶液及含相同百分含量吐温-80 的中药注射剂,发现猴未出现过敏反应,而犬均出现了血压下降、心率减慢等不良反应,表现出动物种族差异的过敏反应。郭姗姗等^[14-15]用清开灵注射液和双黄连注射液对 BN 大鼠和豚鼠进行过敏反应试验比较,结果表明,BN 大鼠在评价清开灵注射液过敏反应中优于豚鼠,认为 BN 大鼠可以成为适宜评价中药注射剂过敏反应的造模动物。

结合相应的超敏反应病理学检测指标,探索建立适当的动物模型和合理评价体系,有助于提高对药物过敏的预测性。由目前的研究可见,BN 大鼠对致敏原敏感性上优于或等于豚鼠,但没有显著性的差异。而现有的中药注射剂致犬过敏的研究也尚不全面,尤其是发生机制方面的研究,有待于在其他品种的动物中寻找敏感的动物模型^[16]。因此,更加敏感和多品系动物体内致敏性评价模型的研究还处于摸索阶段,还需要进一步的研究与探索。

3 常用附加剂与中药注射剂成分相互作用与过敏反应的相关性实验研究

为了增进注射剂的稳定性与有效性,在中药注射剂的生产过程中一般会加入一定的附加剂,如增溶剂、助溶剂、乳化剂等。如吐温-80 由于其结构中具有较长的碳链结构,对亲脂性药物有较好的助溶作用,为中药注射剂中常用的附加剂。目前对中药注射剂中吐温-80 的安全性进行了深入的研究,结果显示吐温-80 与不良反应有直接的关系。刘燕梅等^[17]以 I 型超敏反应为模型,探讨鱼腥草注射液及吐温-80 注射液的过敏原性。结果表明,含吐温-80 的鱼腥草注射液、香丹注射液、吐温-80 注射液对豚鼠过敏实验均出现阳性结果,其中吐温-80 含量达 $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时为明显阳性,吐温-80 含量在 $3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 以下时为弱阳性,对不含吐温-80 的香丹注射液,豚鼠过敏实验结果为阴性;不同来源的吐温-80 均可引起豚鼠过敏反应。说明致敏原因可能为其中所含吐温-80 所致,而且过敏反应强弱与其浓度有关。张美玉等^[10]采用 Beagle 犬类过敏及过敏实验,评价鱼腥草注射液及其辅料吐

温-80 静脉给药的致敏性。结果含有吐温-80 的鱼腥草注射液及吐温-80 组动物给药后出现显著的行为异常,血浆组胺升高, IgE 变化不规律, IgG, IgM 则无明显改变。也说明鱼腥草注射液中导致犬严重类过敏反应与吐温-80 有关。何永亮等^[18]用 0.3% 吐温-80 生理盐水和含 0.3% 吐温-80 的热可宁注射液受试药给 Beagle 犬前肢静脉滴注,均引起犬的过敏反应。张嘉等^[11]用鱼腥草蒸馏液、含吐温-80 的鱼腥草蒸馏液和含羟丙基- β -环糊精(HP- β -CD)的鱼腥草蒸馏液,进行不同实验动物的致敏实验,结果含吐温-80 鱼腥草蒸馏液各组均出现明显过敏反应,结果进一步证实了吐温-80 是鱼腥草注射液中的主要致敏物质,而含 HP- β -CD 鱼腥草蒸馏液各组均未发生过敏反应,说明在有效增溶浓度下 HP- β -CD 无明显致敏性,综合他们既往的毒性试验研究结果初步证明安全性优于吐温-80,且根据现有文献报道其无明显药理活性属于惰性辅料,因此认为有望取代吐温-80 成为鱼腥草注射液新的增溶剂。张嘉等^[19]用吐温-80、泊洛沙姆 188 和 HP- β -CD3 种增溶剂分别与鱼腥草蒸馏液配伍,采用主动全身过敏试验的方法,对 Beagle 犬静脉给药,结果发现泊洛沙姆 188 和 HP- β -CD 与鱼腥草蒸馏液配伍对 Beagle 犬的致敏性明显低于吐温-80。

由此可见,中药注射剂中的附加剂吐温-80 可能是引起过敏反应的因素之一,应对中药注射剂中辅料加强检测及安全性评价,特别对部颁标准中没有标明或标明不含有吐温-80 的注射剂,进行吐温-80 的定性定量检测,为进一步研究、评价、增强中药注射剂的安全性以及临床用药提供可靠的保证。但也有研究认为犬对吐温-80 十分敏感,可产生明显的组胺反应,因此犬可能不适合于含有吐温-80 制剂的安全性研究,特别是注射制剂。随着分析手段的进步和新技术的应用,进一步确定中药注射剂中的附加剂如吐温-80 的添加剂量,寻求更安全、有效的替代物,将使中药注射剂安全性研究和监控等方面更加深入和精确。

4 其他方面的实验研究进展

中药注射剂致不良反应的原因是极为复杂的,不仅有药物本身的缺陷,也有临床使用不规范的因素。人们除了对注射剂中的绿原酸、附加剂等物质致敏性的研究之外,还进行了中药注射剂的杂质、热原处理水平、中药注射剂的质量稳定性等与致敏性相关性的研究。谢本树^[20]在常温下分别测定注射用双黄连与葡萄糖注射液 8 种配伍浓度混合液的微粒数。结果注射用双黄连与 5% 葡萄糖注射液混合 30 min 后,不溶性微粒随注射用双黄连浓度增大而增加。认为两药混合后在常温下 $500 \text{ mL} : 0.6 \sim 3.6 \text{ g}$ 其不溶性微粒符合规定,当增加到 $500 \text{ mL} : 4.2 \sim 4.8 \text{ g}$ 时不溶性微粒即超标。高金波等^[21]试验发现室温下 8 h 内注射用双黄连在生理盐水和 5% 葡萄糖注射液中与 4 种药物(利巴韦林注射液、氯化可的松注射液、注射用头孢羟肟钠、注射用头孢唑啉钠)配伍均很稳定。

同时,利用现代免疫学方法来评价中药注射剂致敏性,

为中药注射剂的致敏性研究提供了新的途径。徐国良等^[22]通过碳二亚胺(EDC)法把绿原酸与载体蛋白牛血清白蛋白和卵蛋白进行偶联制备绿原酸抗原,采用紫外扫描法对合成抗原进行了鉴定;用绿原酸完全抗原免疫豚鼠,以生理盐水和绿原酸标准溶液为对照。间接酶联免疫法测定免疫豚鼠抗血清的效价,成功制备绿原酸完全抗原。张启云等^[23]将双黄连注射剂与正常动物血清体外孵育制备完全抗原,免疫动物获得针对双黄连中过敏性半抗原的特异性抗体,ELISA法检测其效价显示,血清稀释至 1 128 时仍为阳性,按优化条件用间接竞争 ELISA 法测定血清特异性并绘制抑制曲线。结果显示可以很好地用于双黄连注射剂中半抗原物质检测,为今后的绿原酸过敏性研究奠定了基础

5 展望

中药注射剂是中药制剂的新剂型,适用于危机重症的抢救和治疗,在临床上有着重要的作用,但其安全性问题是亟需首要关注的问题。随着研究的深入,中药注射剂中绿原酸的致敏性、附加剂的品种及效量关系、致敏敏感动物的筛选及模型的建立、注射剂的稳定性等方面将会得到有效的解决,同时,充分利用现代技术手段,比如利用免疫化学方法具有较高的灵敏度和特异性,且对样品的纯度要求不高,其中 ELISA 方法由于操作简单、使用安全而被普遍应用于半抗原的检测。利用免疫芯片技术,以绿原酸为指标建立中药注射剂多组分免疫芯片,来鉴定、判断、分离寻找中药复杂组分中小分子致敏成分或其他药理活性成分,具有很强的现实意义,为注射剂的开发和临床安全应用,提供新的研究思路。

[参考文献]

[1] 汪旭,金向群,睢诚.高效液相色谱法测定双贯感宁颗粒中绿原酸的含量[J].中国实验方剂学杂志,2008,14(3):22.

[2] 钟希文,吴燕红.高效液相色谱法测定复方咽痛消喷剂中绿原酸的含量[J].中国实验方剂学杂志,2007,13(2):14.

[3] 李成网.高效液相色谱法测定银翘解毒颗粒中绿原酸的含量[J].中国实验方剂学杂志,2004,10(5):3.

[4] Freedman S O, Krupcy J, Schon A H, et al. Antigenic properties of chlorogenic acid[J]. Allergy and Clinical Immunology, 1964, 35(2): 97.

[5] Lowell F C. Allergenicity of chlorogenic acid[J]. Allergy and Clinical Immunology, 1965, 36(3): 308.

[6] Layton L L, R Panzani, et al. Nondiffusible allergenic contaminant isolated from samples of chlorogenic acid causing allergic reactions: pure chlorogenic acid not an allergen[J]. J Allergy, 1966, 38(5): 268.

[7] 罗飞,包旭,林大胜,等.绿原酸对动物的致敏性研究[J].华西药理学杂志,2009,24(2):181.

[8] 冯文宇,刘明华,肖顺汉,等.金银花精提取物与粗提

取物注射液的主动全身过敏试验研究[J].时珍国医国药,2008,19(12):2847.

[9] Uetrecht J. Role of animal models in the study of drug-induced hypersensitivity reactions [J] . AAPS J, 2006, 7 (4) : 914.

[10] 张美玉,李贻奎,张嘉,等.鱼腥草注射液过敏及类过敏实验研究[J].中国现代应用药学杂志,2009,26(8):610.

[11] 张嘉,李连达,李贻奎,等.鱼腥草蒸馏液与两种增溶剂配伍后的致敏性比较[J].毒理学杂志,2009,23(1):47.

[12] 孙立,刘晓萌,王欣,等.吐温-80引起动物类过敏反应的原因初步探索[J].毒理学杂志,2007,21(4):322.

[13] 冯文宇,肖顺汉,刘明华,等.含吐温 80 中药注射剂对不同动物的过敏反应[J].泸州医学院学报,2007,30(2):92.

[14] 郭姗姗,王意忠,张毅,等. BN 大鼠和豚鼠对清开灵注射液致速发型过敏反应的比较[J].药学学报,2009,44(8):852.

[15] 郭姗姗,王意忠,张毅,等. BN 大鼠和豚鼠评价双黄连注射液的过敏反应[J].中国药理学与毒理学杂志,2009,23(2):128.

[16] 张玉生,史艳秋,王建华,中药注射剂过敏反应非临床评价方法[J].中草药,2009,40(2):313.

[17] 刘燕梅,蒲旭峰,雷蕾,等.鱼腥草注射液静脉给药不良反应实验研究 . 豚鼠过敏反应研究[J].中药药理与临床,2008,24(2):61.

[18] 何永亮,易勇,王红星,等.含吐温-80 中药注射液对犬致过敏的研究[J].中药药理与临床,2005,21(1):55.

[19] 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.

[20] 谢本树,廖建宁,赵凤山,等.注射用双黄连与葡萄糖注射液配伍后不溶性微粒变化的考察[J].华夏医学,2009,22(2):309.

[21] 高金波,侯巍,赵宏,等.注射用双黄连在常用输液中与 4 种药物配伍稳定性考察[J].中国医院药学杂志,2009,29(7):601.

[22] 徐国良,张增珠,张卓辉,等.绿原酸完全抗原的制备及鉴定[J].卫生研究,2008,37(6):690.

[23] 张启云,张卓辉,张增珠,等.双黄连注射剂中半抗原物质 ELISA 检测方法的研究[J].江西中医学院学报,2009,2(1):39.

[责任编辑 蔡仲德]