

鱼腥草注射液致食蟹猴类过敏反应的实验研究

孙伟伟^{1,2} 李贻奎² 张金艳² 张美玉² 郝伟² 赵乐² 王乃捷³ 杜丰³ 李连达^{2*}

(1. 北京中医药大学基础医学院, 北京市北三环东路 11 号, 100029;

2. 中国中医科学院西苑医院实验研究中心; 3. 北京中研同仁堂医药研发有限公司)

基金项目: 国家科技重大专项课题(2009ZX09502-007)

* 通讯作者: lilianda1934@163.com, (010) 62874069

[摘要] **目的** 评价不同浓度不同产地的吐温 80 配制的鱼腥草注射液静脉给药对食蟹猴的致敏性。**方法** 将食蟹猴随机分为生理盐水组、含 0.25% 广州化学吐温 80 鱼腥草注射液组(0.25% 广州组)、含 0.25% 南京威尔吐温 80 鱼腥草注射液组(0.25% 南京组)、含 0.30% 南京威尔吐温 80 鱼腥草注射液组(0.30% 南京组), 每组 3 只。给药前及给药后 24h 内观察动物状态及反应症状, 并根据反应症状分级标准判定级别; 给药前及停药后 10min 取血检测免疫球蛋白 E(IgE)、组胺含量, 综合判定致敏性。**结果** 各组鱼腥草注射液静脉滴注后, 均未诱发食蟹猴出现典型的类过敏反应, 各组血浆组胺含量给药前后比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 控制吐温 80 质量, 并将浓度限定在 0.30% 以下, 可以在维持药物增溶效果的同时避免类过敏反应的发生。

[关键词] 鱼腥草注射液; 吐温 80; 类过敏反应; 食蟹猴; 免疫球蛋白 E; 组胺

Experimental Study on Macaca Fascicularis Anaphylactoid Reactions Induced by Houttuynia Cordata Injection

SUN Weiwei^{1,2}, LI Yikui², ZHANG Jinyan², ZHANG Meiyu², HAO Wei², ZHAO Le², WANG Naijie³, DU Feng³, LI Lianda²

(1. School of Preclinical Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029; 2. Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences; 3. Beijing Zhongyan Tongrentang Medical Research and Development Company Limited)

ABSTRACT **Objective** To evaluate the sensitization of Houttuynia Cordata Injection containing Tween-80 of different concentration and from different producer on Macaca fasciculari by intravenous injection. **Methods** Macaca fascicularis were randomized into 4 groups with 3 in each, i.e. normal saline group, Houttuynia Cordata Injection containing 0.25% Guangzhou chemical Tween-80 group (0.25% Guangzhou group), Houttuynia Cordata Injection containing 0.25% Nanjing Weir Tween-80 group (0.25% Nanjing group), and Houttuynia Cordata Injection containing 0.30% Nanjing Weir Tween-80 group (0.30% Nanjing group). The general situations and reactions of animals were observed before intravenous infusion and within 24 hours. The reaction severity was determined according to the grading standard. Blood samples were collected before infusion and at the moment of 10min after infusion ended in order to measure the concentrations of immunoglobulin E (IgE) and histamine, and the reaction severity was also taken into consideration to evaluate comprehensively the sensitization of different injections on Macaca fascicularis. **Results** There were no typical anaphylactoid reactions on Macaca fascicularis induced by intravenous infusion of Houttuynia cordata injections, and the content of plasma histamine was not changed significantly compared with that before treatment. **Conclusion** By controlling the quality of Tween-80 and circumscribing its concentration to below 0.30%, it is possible to avoid the occurrence of anaphylactoid reactions and ensure the effect of solubilization at the same time.

Key Words Houttuynia cordata injection; Tween-80; anaphylactoid reactions; Macaca fascicularis; immunoglobulin E (IgE); histamine

鱼腥草注射液因其良好的疗效, 被用于传染性非典型肺炎(SARS)和禽流感等重大疾病中。近年来, 由于其严重不良反应的出现, 一度被停用, 目前仍不能用于静脉给药。其主要不良反应是类过敏反应, 其中使用的增溶剂吐温 80(聚山梨酯 80)是引发急性类过敏反应的主要原因, 0.5%(v/v)吐温 80 可诱发豚鼠过敏实验阳性, 1%可诱发 Beagle 犬出现

类过敏反应强阳性, 2%可导致食蟹猴死亡^[1-3]。前期实验已证实, 提高吐温 80 质量, 并将其使用浓度限定在 0.25%或 0.30%, 可在保证增溶效果的同时避免过敏及类过敏反应的发生, 提高安全性^[4-5]。为进一步验证其安全性, 选取与人类亲缘关系相近的食蟹猴为研究动物, 再次对不同厂家、不同浓度吐温 80 做为增溶剂配制的鱼腥草注射液, 进行了类过敏

反应实验的比较研究。

1 材料与方法

1.1 实验药物及试剂

由湖南某药厂提供的含0.25%吐温80的鱼腥草注射液:严格按照中药成方制剂国家标准^[6](标准编号:WS3-B-3264-98)及国家药品标准修订批件(2001ZB0086)制得鱼腥草重蒸馏液,再加入0.25%浓度吐温80(广州化学试剂厂,批号20081201-1),配成注射液,115℃灭菌30min,封装备用。由四川某药厂提供的含0.25%、0.30%吐温80的鱼腥草注射液:按照上述标准制得鱼腥草重蒸馏液,再分别加入0.25%或0.30%浓度吐温80(南京威尔化工有限公司,批号090901),配成注射液,灭菌后封装备用。猴免疫球蛋白E(IgE)、组胺ELISA试剂盒,美国RapidbioLab产品,批号分别为:IgE9B024s,9B011s。

1.2 实验动物及仪器

食蟹猴12只,雄性,体重4.5~6.0kg,清洁级,北京协尔鑫生物资源研究所提供,动物许可证号:SCXK(京)2005-0005。输液泵,SK-600I,深圳深科医疗器械技术开发有限公司;GL-20B高速冷冻离心机,上海安亭科学仪器厂;全自动酶标仪:MULTISKANMK3,美国Thermo公司产品。

1.3 动物分组

将食蟹猴按体重采用随机数字表法分为生理盐水组、B组=0.25%广州组(含0.25%广州化学吐温80鱼腥草注射液组);C组=0.25%南京组(含0.25%南京威尔吐温80鱼腥草注射液组);D组=0.30%南京组(含0.30%南京威尔吐温80鱼腥草注射液组),每组3只。

1.4 实验方法

实验前3天观察食蟹猴的行为、毛色、精神状态及其大小便、饮食、饮水情况是否正常。实验开始前观察各组猴的眼睑、嘴、颈、腹部、四肢皮肤等情况,以及行为、步态、机体协调能力、精神状态等。动物固定后一次性给药,体积为40.0ml/kg(相当于人临床最大用量10倍),前肢静脉恒速滴注(速度为5ml/min,无菌操作)。给药前及给药后24h内观察每只猴的反应症状,记录症状出现时间、消失时间。给药前及停药后10min取血,制备血浆,采用双抗夹心法ELISA试剂盒检测血浆中组胺及IgE含量,并计算后前差值(药后值-药前值),升高程度(后前差值/药前值×100%)。

1.5 判定标准

根据自拟“猴类过敏反应症状分级标准”判断动物反应症状级别。观测症状包括: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,恶心、呕吐,腹泻,精神萎靡,活动减少,面色苍白,呼吸急促,口唇紫绀,大小便失禁,甚至抽搐、昏迷、休克、死亡等。若上述多种症状出现,持续3min以上,并逐渐加重者,判定为典型症状;若仅出现部分症状,症状较轻,行为异常在3min内消失,无持续性加重,无严重后果者,判定为不典型症状;无明显异常表现者,判定为无症状。将动物反应症状级别与血浆生化指标结合,判定致敏性。若动物有典型症状,且血浆组胺值升高1倍以上者,判定为阳性;若动物仅有典型症状,或仅有血浆组胺值升高1倍以上者,判定为可疑;若动物无症状或症状不典型,且无血浆组胺值升高1倍以上者,判定为阴性。

1.6 统计学方法

采用SPSS 17.0统计软件处理数据。计量资料均用($\bar{x} \pm s$)表示,各组之间的比较采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 各组食蟹猴反应症状比较

4组食蟹猴在给药后均未出现类过敏反应的典型症状。0.25%广州组、0.25%南京组各有1只猴在给药过程中出现以固定架搔挠面部,面部皮肤略显潮红的反应;0.30%南京组1只猴给药时出现面部皮肤潮红轻肿、耳部红热等不典型症状。但这些症状少而轻,不能判定为类过敏反应的典型症状。其他动物无任何明显异常表现。结果表明3种鱼腥草注射液均未诱发食蟹猴出现类过敏反应的典型症状。

2.2 各组食蟹猴血浆IgE含量比较

各组食蟹猴给药前后血浆中IgE含量均低于ELISA试剂盒检测最低值0μg/ml,各组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.3 各组食蟹猴血浆组胺含量比较

表1示,给药后仅0.25%广州组血浆组胺升高约64.27%,但未超过1倍。生理盐水组中1只猴药后组胺测量值出现较大偏差,统计时去除该只动物。其他各组动物血浆组胺均无明显升高超过50%者。除0.25%广州组1只猴药后组胺值升高至1.49ng/ml外,其余各只食蟹猴给药前、后血浆组胺值均低于1ng/ml。与生理盐水组比较,各组动物组胺升高程度差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

表1 各组食蟹猴给药前后血浆组胺含量比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	给药前 (ng/ml)	给药后 (ng/ml)	给药前后差值 (ng/ml)	升高程度 (%)
生理盐水组	2	0.54±0.16	0.48±0.17	-0.06±0.00	-10.75±3.52
0.25%广州组	3	0.53±0.18	0.91±0.54	0.39±0.37	64.27±51.25
0.25%南京组	3	0.58±0.14	0.67±0.15	0.09±0.11	16.84±22.70
0.30%南京组	3	0.51±0.39	0.70±0.19	0.19±0.15	36.47±26.90

2.4 类过敏反应综合判定结果

结合各组食蟹猴给药后的反应症状及血浆组胺含量变化情况,综合判定各组受试液的致敏性,结果显示,各组鱼腥草注射液静脉滴注后,均未诱发食蟹猴出现典型的类过敏反应。

3 讨论

食蟹猴为灵长目猴科猕猴属,与人类的遗传物质有75.0%~98.5%的同源性,可更大程度上客观地评价受试药物用于人类时是否出现致敏性。类过敏反应的主要介导物质是组胺,有文献表明^[7]临床症状与组胺浓度有关:组胺浓度小于或等于1ng/ml无症状,组胺浓度1~2ng/ml仅有皮肤反应;组胺浓度大于3ng/ml出现全身反应;组胺浓度大于100ng/ml出现严重全身反应,主要表现心血管及呼吸系统症状。本实验中仅0.25%广州组有1只猴出现面部轻微潮红,药后组胺升高至1.49ng/ml,但未超过1倍,与人类基本一致。本次实验结果显示,2个企业分别使用0.25%或0.30%浓度2种国产吐温80配制的鱼腥草注射液静脉滴注,均未诱发食蟹猴出现典型的类过敏反应。值得注意的是,该实验的用药剂量为人临床用量的10倍,有少数动物出现轻微皮肤反应,考虑临床上老年患者及易敏人群的存在,在使用含吐温80类药物时,仍需提高警惕。

综上所述,若严格控制吐温80质量,并将浓度限定在0.25%或0.30%以下,可以在保证药物增溶

效果的同时避免过敏及类过敏反应的发生。动物的类过敏反应存在种属差异,Beagle犬对吐温80最为敏感,用于评价吐温80的安全性较为准确。食蟹猴与人类亲缘相近,可提供与人类接近的安全性研究数据,但价格昂贵,实验费用高,并不适合药厂用于药品出厂前安全性检测的常规类过敏反应的评价。通过对不同种属动物的系统致敏性研究,可为临床安全用药提高参考。

参考文献

[1]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Ⅱ.豚鼠过敏反应研究[J].中药药理与临床,2008,24(2):61-63.
[2]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):610-614.
[3]张美玉,李连达,李贻奎,等.鱼腥草注射液对食蟹猴类过敏实验研究[J].中药药理与临床,2009,25(6):55-57.
[4]孙伟伟,李贻奎,张金艳,等.吐温80及其配制的鱼腥草注射液致豚鼠过敏反应的实验研究[J].中药新药与临床药理,2011,22(1):47-51.
[5]孙伟伟,李贻奎,张金艳,等.聚山梨酯80及其配制的鱼腥草注射液致Beagle犬类过敏反应实验研究[J].中国中西医结合杂志,2011,31(1):90-93.
[6]国家药典委员会.中药成方制剂国家标准(第17册)[M].北京:人民卫生出版社,1998:170.
[7]田玉科,围手术期过敏反应及类过敏样反应[J].医学新知杂志,2005,12(2):7-9.
(收稿日期:2010-06-02;修回日期:2011-02-12)
[编辑:行 之]

(上接第772页)

[5]王立志,李晓晨,孙涛,等.中国林蛙蝌蚪和大蟾蜍蝌蚪的最适温度、逃避温度及致死温度[J].动物学杂志,2005,40(2):23-27.
[6]余惠旻,肖小河,刘塔斯,等.中药四性的生物热动力学研究Ⅰ:生晒参和红参药性的微量热学比较[J].中国中药杂志,2002,27(5):393-399.
[7]赵海平,赵艳玲,肖小河,等.基于冷热板示差法的中药大黄和附子寒热药性差异的表征[J].中国科学C辑:2009,39(8):803-808.
[8]Zhou CP, Wang JB, Xiao XH, et al. Investigation on

the differences between COLD and HOT nature of Coptis Chinensis Franch and its processed material based on animal's temperature tropism [J]. Science in China(Series C), 2009, 39(7):669-676.
[9]任永申,王伽伯,肖小河,等.小鼠限食/低温游泳模型评价黄连、吴茱萸及其复方寒热药性[J].药学学报,2008,44(11):1221-1227.
[10]张学儒,赵艳玲,王伽伯,等.基于小鼠温度趋向行外学表征的红参和西洋参寒热药性差异研究[J].中华医学,2009,89(29):1994-1998.
(收稿日期:2009-12-30;修回日期:2010-07-11)
[编辑:行 之]