

阿立哌唑注射液肌肉刺激、溶血及过敏试验研究

陈 凯¹, 邱 波, 郑智勇, 刘 琳, 马玉奎*

山东省药学院 山东省化学药物重点实验室, 山东 济南 250101

摘 要: **目的** 评价阿立哌唑注射液的肌肉刺激性, 观察其是否具有溶血、凝聚及过敏反应。**方法** 采用兔股四头肌 sc 给药, 观察阿立哌唑注射液对注射局部肌肉的刺激性; 采用 2% 兔红细胞混悬液检查阿立哌唑注射液有无溶血和红细胞凝聚反应; 采用豚鼠全身主动过敏试验 (ASA) 评价阿立哌唑注射液有无过敏反应。**结果** 阿立哌唑注射液对兔红细胞无溶血及凝聚作用; 新西兰兔单次及连续 7 d sc 给予阿立哌唑注射液, 均发现其对股四头肌有刺激作用, 以肌纤维的变性坏死为主, 肌纤维崩解消失, 病灶内可见散在的炎细胞浸润, 停药 14 d 后刺激反应消失; 每只 3.75、7.50 mg 剂量下给予阿立哌唑注射液, 豚鼠未见过敏反应。**结论** 阿立哌唑注射液未见溶血和过敏反应, 较高浓度下可能会引起肌肉刺激性反应。

关键词: 阿立哌唑注射液; 肌肉刺激; 溶血性; 过敏

中图分类号: R965.3

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2017)09-1270-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2017.09.014

Experimental study of Aripiprazole Injection on muscular irritation, hemolysis and sensitization

CHEN Kai, QIU Bo, ZHENG Zhi-yong, LIU Lin, MA Yu-kui

Shandong Academy of Pharmaceutical sciences, Shandong Provincial Key Laboratory Of Chemical Drug, Jinan 250101, China

Abstract: Objective To evaluate the muscular irritation, hemolysis and sensitization of Aripiprazole Injection. **Methods** The local muscle irritation of Aripiprazole Injection was observed through sc injection on quadriceps femoris in rabbits. The 2% red blood cell suspension in the blood of rabbit was used to check whether Aripiprazole Injection could cause the reaction of emolysis and erythrocyte agglutination. The method of systemic active allergic test (ASA) was used to evaluate the effect of Aripiprazole Injection on allergic reaction in Guinea pigs. **Results** No evidence of hemolysis and aggregation on rabbit erythrocyte *in vitro* was observed after Aripiprazole Injection treatment. Test substance was sc injected by single or multiple doses for 7 d, both of them had muscular irritation on New Zealand rabbits, the major pathologic change was the degeneration and necrosis of myofibers, myofibers broke apart and disappeared, lots of inflammatory cells immersed. After drug withdrawal, muscular irritation was recovered. No allergic reactions on Guinea pigs *in vivo* were observed at the low dose of 3.75 mg and the high dose of 7.5 mg. **Conclusion** Aripiprazole Injection has no hemolysis and sensitization, but may cause muscle irritation at higher concentration.

Key words: Aripiprazole Injection; muscular irritation; hemolysis; sensitization

阿立哌唑 (aripiprazole) 属喹啉类衍生物, 化学名为 7-[4[4 (2, 3-二氯苯基)-1-哌嗪基]丁氧基]-3^[1], 于 2002 年 11 月通过美国 FDA 批准上市, 对精神分裂症阳性、阴性症状和焦虑、抑郁、认知功能障碍都有明显疗效, 而且安全性高, 其独特的药理学特性引导了精神科领域的探索, 被一些学者誉为“第三代抗精神病药”或“多巴胺系统稳定剂”^[2]。本研究按照国家食品药品监督管理局的《药物刺激性、

过敏性和溶血性研究技术指导原则》^[3]要求进行了肌肉刺激性、溶血及全身主动过敏反应 (ASA) 试验。

1 材料

1.1 药品与主要试剂

阿立哌唑注射液, 批号 151011, 规格 1.3 mL: 9.75 mg, 纯度 100.1%, 山东省化学药物重点实验室提供; 卵白蛋白, 批号 326A0515, 规格 10 g/瓶, 购自 Sigma 公司; 0.9%氯化钠注射液 (NS), 批号

收稿日期: 2017-04-14

作者简介: 陈 凯 (1982—), 男, 硕士, 工程师, 研究方向为药理、毒理。E-mail: chenkaiz728@126.com

*通信作者 马玉奎 E-mail: yukuima@sina.com

3215041701, 规格 100 mL/袋, 购自青州尧王制药有限公司。

1.2 实验动物

普通级新西兰兔, 体质量 2.0~3.0 kg, 雌性; 普通级 Hartley 豚鼠, 体质量 275~350 g, 雌雄各半, 济南西岭角养殖繁育中心, 生产许可证号 SCXK(鲁) 2015-0001。由山东省药科学院新药评价中心动物房饲养, 实验动物使用许可证号 SYXK(鲁) 2014-0008。饲养房间温湿度采用 Honeywell EBI 系统进行控制, 实验期间温度范围 20.3~24.7 °C, 湿度范围 40%~70%; 饲养采用动物照明, 明暗各 12 h 交替的照明控制。

2 方法

2.1 肌肉刺激性试验^[3]

新西兰兔经 1 周适应期观察, 选取 6 只健康动物, 随机分为 2 组: 单次给药组、给药 7 d 组。给药 7 d 组每天给药 1 次, 连续给药 7 d。采用自体对照法, 左侧股四头肌以无菌操作 sc 1 mL 的阿立哌唑注射液(为临床拟用最大浓度 7.5 mg/mL, 1 mL 为家兔肌肉刺激性实验的常规体积), 右侧股四头肌 sc 等体积的生理盐水。

每次给药前和末次给药后 24、48 h 肉眼观察注射部位的局部反应, 是否有充血、红肿、硬结等反应; 分别取两组动物的 2/3 例和 1/3 例于末次给药后 48 h 及停药恢复 14 d 采用安死术处死动物, 取注射部位及周围组织, 肉眼观察肌肉充血程度、是否出现肌肉变性、坏死等; 采用 10% 中性缓冲福尔马林溶液固定肌肉组织, 常规组织切片, HE 染色,

显微镜下进行组织病理学检查。

2.2 溶血试验^[4-5]

2.2.1 红细胞血液制备 兔耳中央动脉取血约 10 mL, 轻轻搅拌除去纤维蛋白, 使成脱纤血液, 分别取 4 mL 移入 2 支刻度离心管中, 加入约 10 倍量的生理盐水, 摇匀后分装至离心管, 1 500 r/min 离心 15 min, 除去上清液, 沉淀的红细胞用生理盐水按上述方法再洗涤 1 次, 上清液不显红色。将所得红细胞用生理盐水稀释成 2% 的混悬液备用。

2.2.2 加样观察 取洁净试管进行编号, 1~5 号管为阿立哌唑注射液原液管, 6~10 号管为阿立哌唑注射液稀释液管(生理盐水 1:3 稀释), 11 号管为阴性对照管(生理盐水), 12 号管为阳性对照管(灭菌注射用水)。按照表 1 顺序加入各种溶液, 轻轻摇匀后, 立即置 (37±0.5) °C 的恒温培养箱中温育。每隔 15 min 观察 1 次, 1 h 后每隔 1 h 观察 1 次, 观察 3 h。

2.2.3 结果判断 ①溶血: 溶液呈透明红色, 管底无红细胞残留或有少量红细胞残留。②无溶血: 红细胞全部下沉, 上清液体无色澄明。③红细胞凝聚: 溶血中棕红色或红棕色絮状沉淀, 振荡后不分散。

2.3 豚鼠 ASA 试验^[3]

2.3.1 致敏 挑选健康 32 只 Hartley 豚鼠按照体质量以随机分组方法分为 4 组: 阿立哌唑注射液高、低剂量组, 阳性对照(卵白蛋白)组和阴性对照(生理盐水)组, 每组 8 只, 雌雄各半。本品临床拟用累计剂量最高为 30 mg/d, 拟用最大浓度为 7.5 mg/mL, 豚鼠等效剂量约为 2.5 mg/kg。因此, 各组

表 1 溶血试验

Table 1 Hemolysis test

试管编号	阿立哌唑注射液原液/mL	阿立哌唑注射液稀释液/mL	生理盐水/mL	灭菌注射用水/mL	2%红细胞悬液/mL
1	0.1	0	2.4	0	2.5
2	0.2	0	2.3	0	2.5
3	0.3	0	2.2	0	2.5
4	0.4	0	2.1	0	2.5
5	0.5	0	2.0	0	2.5
6	0	0.1	2.4	0	2.5
7	0	0.2	2.3	0	2.5
8	0	0.3	2.2	0	2.5
9	0	0.4	2.1	0	2.5
10	0	0.5	2.0	0	2.5
11	0	0	2.5	0	2.5
12	0	0	0	2.5	2.5

分别给予阿立哌唑注射液 3.75、7.50 mg/只（豚鼠体重以 400 g 计，分别约相当于临床拟用累计最高剂量的 7.50 和 3.75 倍），卵白蛋白 1 mg/只，生理盐水 1.0 mL/只，ip 给药，隔天给药 1 次，共 3 次。

2.3.2 激发 末次致敏后第 14 和 21 天，分别按照 2 倍的致敏剂量，各组动物快速 iv 对应药物进行激发，每次激发一半动物。激发后立刻观察 30 min，并按表 4、5 观察症状、判断过敏反应程度。

表 4 过敏反应症状

Table 4 Allergic symptoms

编号	症状	编号	症状	编号	症状
0	正常	7	呼吸急促	14	步态不稳
1	不安宁	8	排尿	15	跳跃
2	竖毛	9	排粪	16	喘息
3	发抖	10	流泪	17	痉挛
4	搔鼻	11	呼吸困难	18	旋转
5	喷嚏	12	哮鸣音	19	潮式呼吸
6	咳嗽	13	紫癜	20	死亡

表 5 全身过敏反应评价标准

Table 5 Evaluation criteria for systemic anaphylaxis

症状	级别	过敏反应评价
0	—	阴性
1~4	+	弱阳性
5~10	++	阳性
11~19	+++	强阳性
20	++++	极强阳性

3 结果

3.1 肌肉刺激性试验

给药 7 d 组 3 只动物自给药第 4 天起至解剖当

天均发现给药侧注射部位有硬结，单次给药组动物注射部位未见异常，对照侧注射部位亦未见异常改变。

给药后 48 h 解剖，单次给药组动物注射部位未发现肉眼可见的异常改变；给药 7 d 的动物给药侧注射部位可见肌肉红肿、发紫、光泽消失、坏死。

镜检观察发现单次给药及给药 7 d 组动物的给药侧注射部位以肌纤维的变性坏死为主，肌纤维崩解消失，病灶内可见散在的炎性细胞浸润；对照侧股四头肌未见异常改变。恢复 14 d 后，肉眼观察及组织病理学检查均未发现肌肉组织纤维化等异常病理改变。组织病理学改变见图 1。

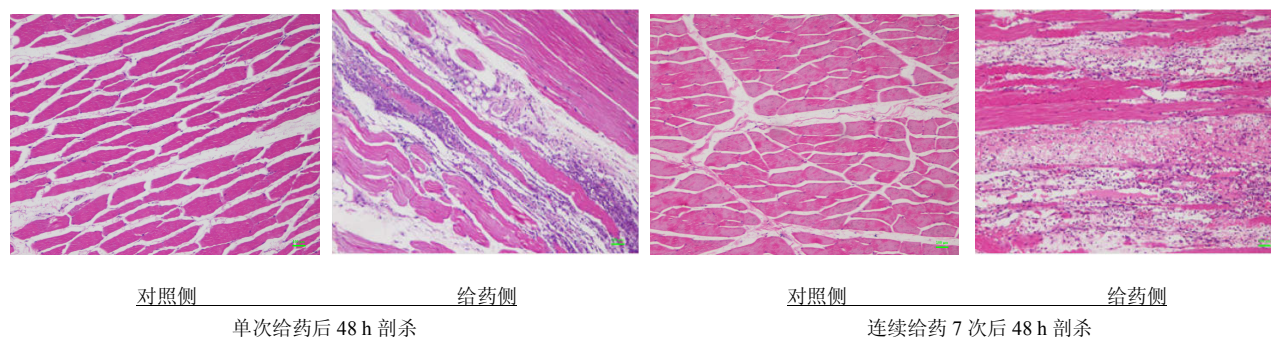


图 1 组织病理学图片

Fig. 1 Histopathologic pictures

3.2 溶血试验

(37±0.5)℃恒温放置 3 h 后，阴性对照管（11 号管）红细胞下沉，上清液无色透明，适当振摇后下沉的红细胞重新分散，未出现溶血和凝聚；阳性对照管（12 号管）溶液呈澄明红色，管底无红细胞

残留，判定为全溶血。

阿立哌唑注射液原液管（1~5 号管）恒温放置 3 h 后，2~5 号管的红细胞颜色逐渐变暗，但红细胞下沉，上清液未见溶血；适当振摇后下沉的红细胞重新分散，未见凝聚现象。

阿立哌唑注射液稀释液管(6~10号管)恒温放置3h后,各管红细胞下沉,上清液均无色透明,适当振摇后下沉的红细胞重新分散,未出现溶血和凝聚现象。

3.3 豚鼠ASA试验

于末次致敏给药后第14和21天分别二次激发,激发给药后30min内,阴性对照组豚鼠未见过敏反应,阳性对照组豚鼠均出现全身过敏反应症状,并于激发给药后4min内全部死亡,反应呈极强阳性。

阿立哌唑注射液低、高剂量(3.75、7.5mg/只)组豚鼠均未见过敏反应症状。

4 讨论

体外溶血试验表明,阿立哌唑注射液对兔红细胞无溶血及凝聚作用;豚鼠ASA试验表明,给予临床拟用累计最高剂量7.50、3.75倍的阿立哌唑注射液,豚鼠均未见过敏反应症状。

阿立哌唑注射液临床拟用最大浓度不超过7.5mg/mL,本研究中肌肉刺激性试验的给药浓度为7.5mg/mL,符合肌肉刺激性实验剂量设计要求,1mL的肌注体积为国内外家兔肌肉刺激性实验的常规体积。考虑到临床上肌肉注射给药部位的更换,增加了单次给药后刺激性的考察,同时也考察了多次给药后的刺激性。试验结果表明,新西兰兔单次及连

续7d肌肉注射给予阿立哌唑注射液,均发现其对股四头肌有刺激作用,与临床使用说明书中注射部位疼痛、炎症及注射部位刺激反应一致;但药后14d给药部位可见明显恢复。

阿立哌唑注射液未见溶血和过敏反应,但较高浓度下可能会引起肌肉刺激性反应,因此,临床使用需要更换给药部位,并重点观察其刺激反应。

参考文献

- [1] T Inoue, M Domae, K Yamada, et al. Effects of the novel antipsychotic agent 7-(4-[4-(2,3-dichloro phenyl)-1-piperazinyl]utyloxy)-3,4-dihydro-2(1H)-quinolinone (OPC-14597) on prolactin release from the rat anterior pituitary gland [J]. J Pharmacol Exp Ther, 1996, 277(1): 137-143.
- [2] 吴仁容, 李乐华. 新型抗精神病药:阿立哌唑 [J]. 国外医学精神病学分册, 2004, 31(3): 177-179.
- [3] 药物药物刺激性、过敏性和溶血性研究技术指导原则 [S]. 2014.
- [4] 赵涛, 牟丽丽, 李斌, 等. 注射用替加环素临床前安全性研究 [J]. 药物评价研究, 2014, 37(5): 441-444.
- [5] 高绪聪, 张金晓, 肖宇萌, 等. 重组人干扰素 β -1a注射液制剂安全性研究 [J]. 药物评价研究, 2015, 38(4): 380-383.