

## 小鼠耳廓蓝染类过敏检测方法用于注射益气复脉（冻干）的质控研究

万梅绪<sup>1,2</sup>, 宋美珍<sup>1,2</sup>, 李智<sup>1,2</sup>, 李德坤<sup>1,2</sup>, 马晓慧<sup>2,3</sup>, 鞠爱春<sup>1\*</sup>

1. 天津天士力之骄药业有限公司, 天津 300410
2. 天津市中药注射剂安全性评价企业重点实验室, 天津 300410
3. 天士力集团研究院药理毒理研究中心, 天津 300410

**摘要:** **目的** 对小鼠耳廓蓝染类过敏检测法进行方法学的验证和优化, 建立注射用益气复脉(冻干, YQFM)质控方法。**方法** 小鼠1次性尾iv含0.4%依文思蓝(EB)的受试物, 以耳廓蓝染发生率和EB渗出量作为类过敏评价指标, 以Compound 48/80为阳性对照, 考察了方法的重复性、鼠耳萃取时间等影响因素, 并对20140105和20140804两个批次YQFM(1 800 mg/kg)进行了耳廓蓝染类过敏试验。**结果** Compound 48/80具有明显的致类过敏反应, 模型稳定, 重复性好; 鼠耳在加入甲酰胺后室温下浸泡2~5 d进行萃取, EB含量未发生显著变化; YQFM 20140105和20140804两个批次均未发生类过敏反应。**结论** 小鼠耳廓蓝染类过敏检测方法较稳定, 可用于YQFM质量控制。

**关键词:** 类过敏; 小鼠耳廓蓝染类过敏检测法; 注射用益气复脉(冻干); 质量控制; Compound 48/80

**中图分类号:** R962.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2018)03-0405-06

**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.03.009

## Quality control study on Yiqi Fumai Lyophilized Injection for Mouse ear blue staining pseudo - allergic reactions

WAN Meixu<sup>1,2</sup>, SONG Meizhen<sup>1,2</sup>, LI Zhi<sup>1,2</sup>, LI Dekun<sup>1,2</sup>, MA Xiaohui<sup>2,3</sup>, JU Aichun<sup>1</sup>

1. Tianjin Tasly Pride Pharmaceutical Company Limited, Tianjin 300410, China
2. Key Laboratory of Safety Evaluation of Traditional Chinese Medicine Injections of Tianjin Enterprise, Tasly Academy, Tianjin 300410, China
3. Division of Pharmacology and Toxicology, Tasly Academy, Tasly Holding Group Co., Ltd., Tianjin 300410, China

**Abstract: Objective** To develop and validate the detection method of mouse ear blue staining pseudo-allergic reactions, and establish the method of quality control for Yiqi Fumai lyophilized injection (YQFM). **Method** Mouse anaphylactoid reaction model was developed by tail iv injection of test substance solutions containing Evans blue (EB). Scores of ear blue staining and quantitation of ear EB exudation were the parameters for the pseudo-allergy reaction. The repeatability of the method and the extraction time of the mouse ear were investigated with Compound 48/80 as the positive control. The auricle blue anaphylactoid tests were applied to investigate two batches of YQFM (1800 mg/kg), which are 20140105 and 20140804. **Results** Compound 48/80 caused severe ear bluing and EB exudation by inducing obvious vascular hyperpermeability, which indicated that they can induce mouse pseudo-allergy. The model of mouse pseudo-allergy induced by YQFM was stable and repeatable. Ears can be soaked for 2~5 days in formamide, and the content of ear EB of mouse had no significant change. Moreover, no anaphylaxis was found in YQFM 20140105 and 20140804 batches. **Conclusion** The detection method of mouse ear blue staining pseudo-allergic reactions is stable and can be used for the quality control of YQFM.

**Key words:** pseudo-allergy; mouse anaphylactoid reaction model; Yiqi Fumai Lyophilized Injection; quality control; Compound 48/80

收稿日期: 2018-01-15

基金项目: 天津市中药注射剂关键技术校企协同创新实验室建设项目(17PTSJYC00090)

第一作者: 万梅绪(1981-), 女, 天津人, 高级工程师, 研究方向为安全性评价。Tel: 18502246217 E-mail: wanmx@tasly.com

\*通信作者: 鞠爱春(1973-), 男, 高级工程师, 研究方向为中药注射剂工艺及生产管理。Tel: (022) 86342096 E-mail: juach@tasly.com

研究表明,临床上出现的急性过敏反应77%以上为类过敏反应,而过敏反应和类过敏反应在临床症状上表现相似,其本质区别在于体内是否产生抗体。类过敏发生机制尚不明确,国内专家大多数认为可能与类过敏物质直接刺激肥大细胞/嗜碱粒细胞、或激活补体后导致组胺和过敏介质释放有关<sup>[1-3]</sup>。迄今尚无成熟可靠的类过敏评价模型,《中药注射剂安全性再评价非临床研究技术原则(试行)》中要求进行全身主动过敏和被动皮肤过敏试验,但不能全面和准确地预测临床上中药注射剂过敏反应的发生,因此,在非临床安全性评价中鼓励采用新技术、新方法对致敏性进行研究<sup>[4]</sup>。

目前用于类过敏研究的主要有细胞模型和动物模型。其中细胞模型一般采用RBL-2H3大鼠嗜碱性细胞、P815小鼠肥大细胞、Ku812人白血病细胞和RPMC大鼠腹腔肥大细胞等进行相关过敏介质的检测<sup>[5]</sup>。动物模型一般采用小鼠的皮肤血管渗透性(小鼠耳廓蓝染法)或腭窝淋巴结<sup>[6-7]</sup>等试验、大鼠血压及相关介质的检测、Beagle犬检测给药后的生理指标等类过敏评价模型。

小鼠耳廓蓝染类过敏检测法是近几年大家比较认可的、敏感可靠的类过敏检测方法。其原理是:当致类过敏反应的药物首次iv进入小鼠体内时,可能刺激肥大细胞、嗜碱性粒细胞等释放组胺或其他致敏活性因子,从而导致血管扩张、毛细血管通透性增高。依文思蓝(EB)经静脉进入体内,迅速与血浆蛋白结合。当毛细血管正常时,结合于白蛋白上的EB不会渗出到血管外,但当致类过敏物质导致血管通透性增高时,EB随血浆蛋白渗出到血管外的组织间隙,观察到小鼠耳廓蓝染,可以通过分析耳廓蓝染情况,评价类过敏反应及其程度<sup>[8-9]</sup>。

天津天士力之骄药业有限公司近几年来对上市后的产品注射用益气复脉(冻干,YQFM)进行了上市后安全性再评价工作,其中之一就是免疫毒理方面的研究,即致敏原的寻找和过敏/类过敏方法学的开发,对小鼠耳廓蓝染类过敏检测法进行了方法学的建立、优化,并将其逐步固化成企业产品的安全性质量控制方法。

## 1 材料

### 1.1 试验动物

CD-1(ICR)小鼠,昆明种,雄性,SPF级,体质量20~25g,购于北京维通利华实验动物技术

有限公司,实验动物生产许可证号SCXK(京)2012-0001。饲养条件为室温20~25℃,相对湿度40%~70%,照明时间12h。定时定量添加饲料,食用鼠专用颗粒饲料,饮用经过滤除菌后的过滤水,每日更换垫料。

### 1.2 主要仪器

XP205十万分之一天平,METTLER TOLEDO; T1000电子天平, G&G; Infinite 00多功能酶标仪、75002430小型高速离心机, Thermo。

### 1.3 药品和主要试剂

YQFM,天津天士力之骄药业有限公司生产,批号20140105、20140804; Compound 48/80(C48/80),货号C2313,批号073M4050V, Sigma公司; EB,批号20130218,国药集团化学试剂有限公司; 甲酰胺,批号20140304,天津市光复精细化工研究所; 氯化钠注射液,批号1404031603,石家庄四药有限公司; 75%乙醇,用于配制酒精棉。

## 2 方法

### 2.1 试验分组及给药

**2.1.1 溶液的配制** (1)0.8% EB配制:称取EB 0.8g,用0.9%的氯化钠注射液100 mL溶解,超声10 min,使充分溶解。提前1 d配制,次日用0.22 μm的滤膜过滤后再用于配制含EB的各组药液。

(2) C48/80 - 0.4% EB生理盐水溶液:称取C48/80 6 mg,加入3 mL 0.9%的氯化钠注射液溶解,轻轻摇晃,再加入3 mL经过滤后的0.8% EB。现用现配。

(3) YQFM:剂量为1 800 mg/kg,取一支YQFM加入3.6 mL 0.9%的氯化钠注射液充分溶解,再加入3.6 mL经过滤后的0.8% EB,现用现配。

**2.1.2 试验分组** 阴性对照组:给予0.4% EB生理盐水溶液; C48/80组:阳性对照,给予C48/80 - 0.4% EB生理盐水溶液,给药剂量20 mg/kg; YQFM组:设置1 800 mg/kg作为考察剂量。小鼠均尾iv给药,给药体积20 mL/kg。

YQFM临床使用剂量为:每瓶装0.65 g,8支溶于250~500 mL生理盐水中,1次/日,成人按照体质量70 kg,临床使用剂量为:0.65 g×8支/70 kg=74.29 mg/kg,小鼠/人换算关系为12.3倍,1 800 mg/kg相当于人用临床等效剂量的1.97倍;给药浓度考察:给药浓度以250 mL作为最严标准,人用临床使用浓度为:0.65 g×8支/250 mL=20.8

mg/mL; 1 800 mg/kg 给药浓度为 90.27 mg/mL, 是临床使用浓度的 4.34 倍。

## 2.2 试验指标选择

**2.2.1 小鼠耳廓蓝染评分** 小鼠按体质量随机分组, 每组 10 只, 各组小鼠分别 1 次性尾 iv 给予配制好的药液。采用秒表计时, 给药后 30 min 脱颈处死动物。根据耳廓蓝染情况, 记录每组出现耳廓蓝染的动物数, 进行耳廓蓝染面积 ( $S$ ) 评分, 测定耳廓蓝染发生率 ( $S$  评分  $\geq 1$  分的动物百分率)。耳廓蓝染面积 ( $S$ ) 按照分级评估, 见表 1。

表 1  $S$  评分  
Table 1 Scores of  $S$

分值	$S$	反应程度
0	双耳无蓝染	阴性
1	$0 < S \leq 1/8$ (占耳廓面积的 1/8 以下, 下同)	可疑
2	$1/8 < S \leq 1/4$	弱阳性
3	$1/4 < S \leq 1/2$	阳性
4	$1/2 < S \leq 3/4$	强阳性
5	$3/4 < S \leq 1$	极强阳性

**2.2.2 小鼠耳廓 EB 渗出量测定** (1) EB 标准曲线配制: 称取 EB 10 mg 溶解于甲酰胺 10 mL 中, 配制成 1 mg/mL 的储备液。取储备液 200  $\mu$ L 溶于甲酰胺 20 mL 中, 配制成 10  $\mu$ g/mL 的工作液。各浓度溶液配制见表 2。

表 2 标准曲线溶液配制

Table 2 Solution preparation of standard curve

标准曲线浓度/ ( $\mu$ g·mL <sup>-1</sup> )	配制方法	
	工作液体积/mL	加入甲酰胺体积/mL
10.00	—	—
8.00	4.000	1.000
6.00	3.000	2.000
4.00	2.000	3.000
2.00	1.000	4.000
1.00	0.500	4.500
0.50	0.250	4.750
0.25	0.125	4.875

(2) 样品处理及含量测定: 评分完毕后, 立刻沿耳根剪下双耳, 剪碎, 在室温下用甲酰胺 2 mL 浸泡 48 h, 萃取耳廓内渗出的 EB 染料, 3 000 r/min

离心 15 min, 取上清液 200  $\mu$ L 加入 96 孔培养板中, 空白孔加入 200  $\mu$ L 甲酰胺, 酶标仪在 620 nm 下测定样品的吸光度 ( $A$ ) 值。通过标准曲线计算出各个样品的浓度, 将各样品浓度转换成甲酰胺 2 mL 中所含有 EB 的质量, 计算 EB 染料渗出量, EB 升高率。

EB 升高率 = (给药组 EB 含量 - 阴性对照组 EB 含量) / 阴性对照组 EB 含量

(3) 类过敏反应判断标准: 依据易艳等<sup>[4-5, 7-11]</sup>文献中方法, 本试验中设定如下判断标准: A: 耳廓蓝染发生率  $\geq 30\%$ ; B: 耳廓 EB 升高率  $\geq 50\%$ 。以上 2 项条件均符合时, 类过敏反应判断为阳性。

## 2.3 方法学考察

**2.3.1 类过敏模型重复性考察** 以 C48/80 作为阳性药, 考察类过敏反应模型重复性。试验共分 3 次进行, 每次均设阴性对照组、C48/80 组, C48/80 给药剂量为 2.5、5.0、10.0、20.0 mg/kg。1 次性尾 iv 给药后, 具体试验方法见“2.2”项。

**2.3.2 鼠耳萃取时间对 EB 含量的影响** 查阅众多文献, 小鼠耳廓蓝染法测定类过敏一般采用 48 h 萃取; 因拟将该方法学用于产品的质量的控制检测, 考虑到检验人员的时间合理性, 选取 5 d 作为最高时间段考察, 因此考察 2 和 5 d 两个时间点。

设阴性对照、C48/80 各 1 组, 每组 10 只小鼠。1 次性尾 iv 给药, 30 min 后取耳, 剪碎, 加 1 mL 甲酰胺萃取 (试验当天), 12 500 r/min 离心 3 min 使耳朵碎片完全浸润在萃取液中, 室温放置 2 d (48 h)、5 d (120 h) 后, 分别进行 EB 含量测定, 采用 SPSS 17.0 统计软件, 进行单因素方差分析。

**2.3.3 YQFM 类过敏试验考察** 重复 3 次考察 20140105 和 20140804 两个批次 YQFM 类过敏反应的发生率, 试验设置阴性对照组、C48/80 (20 mg/kg) 组、YQFM 1 800 mg/kg 组, 具体方法见“2.2”项, 试验共开展 3 次, 分 3 周进行。

**2.3.4 其他细节问题** 分别对各组拍照原则、耳廓取材大小和 EB 专属性等进行考察。

## 3 结果

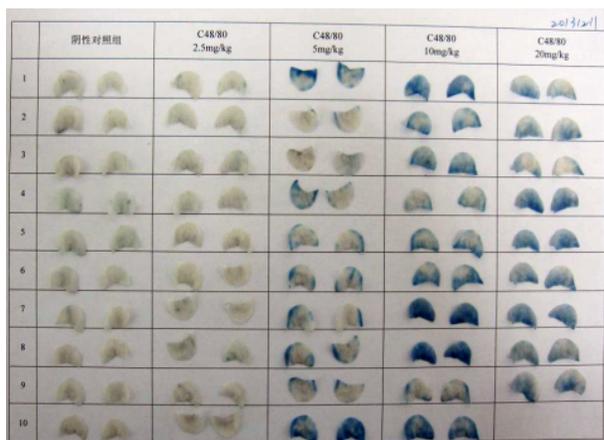
### 3.1 类过敏反应模型重复性考察

动物耳廓蓝染情况见图 1, 3 次重复试验各组耳廓蓝染发生率及 EB 升高率结果见表 3。

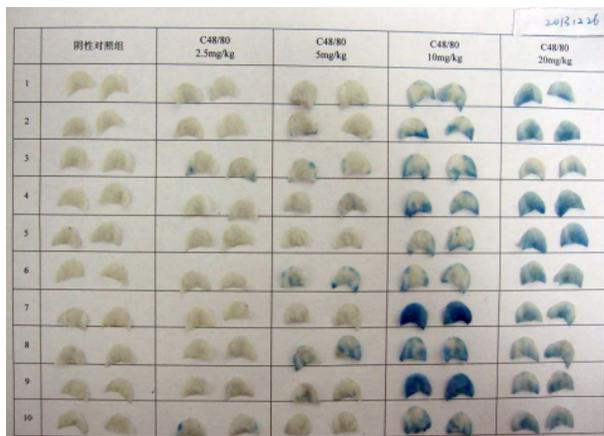
### 3.2 鼠耳萃取时间对 EB 含量的影响

采用单因素方差分析进行检验, 萃取时间及 EB

第一次试验



第二次试验



第三次试验

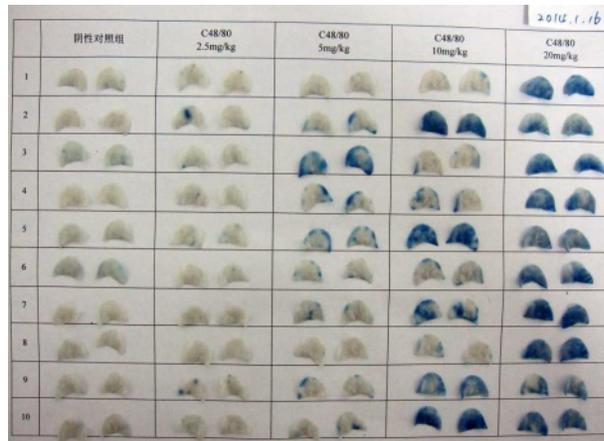


图 1 不同剂量 C48/80 小鼠耳廓蓝染情况

Fig. 1 Ear blue staining of mice treated with different doses of C48/80

含量结果见表 4。阴性对照、C48/80 组萃取 2 d 与 5 d EB 含量比较, 均无显著性差异。

### 3.3 YQFM 类过敏试验

3 次重复试验的各组耳廓蓝染发生率及 EB 升高率结果见表 5。

表 3 不同剂量 C48/80 小鼠耳廓蓝染发生率及 EB 升高率

Table 3 Response rate and EB increased rate of mice treated with different doses of C48/80

试验	组别	剂量/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	耳廓蓝 染发生 率/%	EB 含 量/μg	EB 升 高率/%	类过 敏反应
第一次试验	阴性对照	—	10	0.705 6	—	—
	C48/80	2.5	30	0.669 5	—5.12	—
		5.0	100	2.866 7	306.25	+
		10.0	100	4.597 2	551.50	+
		20.0	100	3.330 7	372.02	+
第二次试验	阴性对照	—	10	0.419 1	—	—
	C48/80	2.5	20	0.629 3	50.15	—
		5.0	70	1.187 0	183.20	+
		10.0	100	5.233 1 1	148.57	+
		20.0	100	2.863 6	583.24	+
第三次试验	阴性对照	—	10	0.6809	—	—
	C48/80	2.5	20	0.5682	—16.56	—
		5.0	70	1.8359	169.63	+
		10.0	100	4.1559	510.35	+
		20.0	100	6.3864	837.92	+

—: 类过敏反应阴性; +: 类过敏反应阳性

—: negative anaphylaxis; +: positive anaphylaxis

表 4 萃取时间及 EB 含量结果

Table 4 Results of extraction time and content of EB

组别	萃取时间	EB 含量/μg
阴性对照	2 d	0.476 8±0.093 1
	5 d	0.509 1±0.107 4
C48/80	2 d	3.910 3±1.991 4
	5 d	3.948 6±2.003 4

### 3.4 方法学优化中的细节问题

**3.4.1 小鼠拍照原则** 为了保留试验结果的可追溯性, 应对各组小鼠进行统一拍照, 拍照时可用纸条注明组别, 避免混淆。必要时对 S 评分较高的鼠耳 (评分 ≥ 2 分) 进行单独拍照。可见图 2 范例。

**3.4.2 小鼠鼠耳的取材位置** 沿耳根剪下双耳, 鼠毛包被的位置应不剪到。

**3.4.3 EB 专属性考察** 空白对照组 (纯注射生理盐水) 和阴性对照组小鼠各 10 只, 脱颈处死, 剪取双耳, 浸泡于 2 mL 的甲酰胺中, 48 h 后, 测定 A 值。A 值采用 SPSS 17.0 软件 t 检验进行分析。结果见表 6,

表5 不同剂量YQFM组耳廓蓝染发生率及EB升高率  
Table 5 Response rate and EB increased rate of YQFM in different dosage groups

第几次试验	组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	耳廓蓝染发生率/%	EB含量/μg	EB升高率/%	类过敏反应
第一次试验	阴性对照	—	10	0.528 1	—	—
	C48/80	20	100	3.959 0	518.89	+
	YQFM 20140105	1 800	20	0.537 8	-15.94	—
	YQFM 20140804	1 800	10	0.448 8	-29.85	—
第二次试验	阴性对照	—	10	0.718 5	—	—
	C48/80	20	100	1.773 4	146.83	+
	YQFM 20140105	1 800	30	0.511 7	-28.774	—
	YQFM 20140804	1 800	50	0.590 5	-17.812 5	—
第三次试验	阴性对照	—	10	0.397 3	—	—
	C48/80	20	100	2.578 0	548.90	+
	YQFM 20140105	1 800	30	0.520 2	30.94	—
	YQFM 20140804	1 800	10	0.455 1	14.55	—

—: 类过敏反应阴性; +: 类过敏反应阳性  
—: negative anaphylaxis; +: positive anaphylaxis

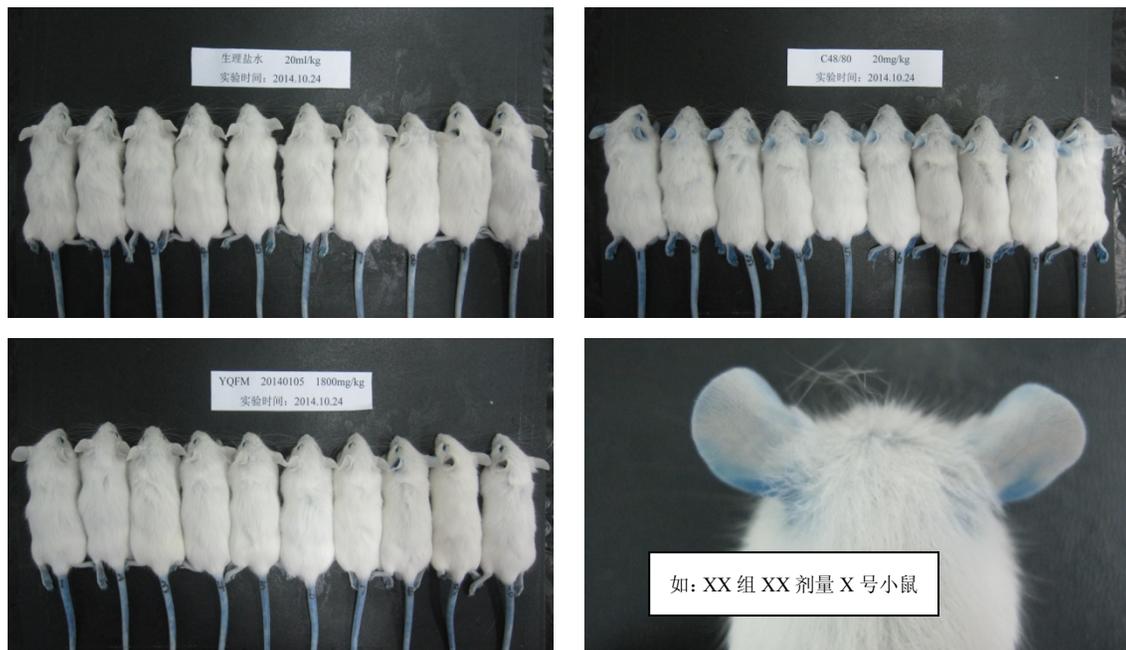


图2 小鼠拍照示例

Fig. 2 Example for taking pictures of mice

表6 空白对照组和阴性对照组A值  
Table 6 A value in black control and negative control group

组别	A值
空白对照	0.000 8±0.000 3
阴性对照	0.012 7±0.006 5**

与空白对照组比较: \*\*P<0.01

\*\*P<0.01 vs black control group

阴性对照组A值与空白对照组比较, 差异显著。说明本方法测定耳廓内EB含量具有专属性。

3.4.4 标准曲线的确定 经过大量的试验摸索, 发现YQFM类过敏试验中有的数据低于标准曲线的下限, 其原因可能与YQFM试验剂量下本身不具有致类过敏发生有关, 对较低浓度区域EB浓度与A值进行线性回归分析, 即降低EB浓度范围

为 1、0.75、0.5、0.25、0.2、0.125、0.062 5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，与  $A$  值的标准曲线为  $y=0.038 1x+0.001 1$ ， $R^2=0.999 1$ 。

## 4 结论

### 4.1 类过敏反应模型重复性考察

采用 C48/80 作为类过敏反应阳性药，对其不同剂量进行考察，重复 3 次试验结果均表明小鼠耳廓蓝染法测定类过敏的模型稳定，重复性好。结果显示，C48/80 引起类过敏反应的最低剂量为 5 mg/kg。即在进行类过敏试验采用 C48/80 作为阳性药时，给药剂量应  $\geq 5$  mg/kg。不过 3 次平行试验的数据也充分表明，EB 渗出量和升高率各次试验数据差别较大，查阅梁爱华团队历年发表的文献，其中的 C48/80 组一般采用 25 mg/kg，各次的试验数据也相差较大，推测可能是试验动物本身的个体差异或其他原因所致的系统误差，在每次试验过程中均设置阴性对照组，各组试验动物的数值均减去阴性对照组的数值，保证了每次试验结果的可靠性。

### 4.2 鼠耳萃取时间对 EB 含量的影响

试验结果表明：阴性对照、C48/80 组萃取 2 d 与 5 d EB 含量均无显著性差异，即鼠耳在加入甲酰胺后室温下浸泡 2~5 d 均可，可方便试验人员选择合适的时间进行试验。

### 4.3 YQFM 类过敏试验考察

(1) 以 1 800 mg/kg 作为给药剂量，结合耳廓蓝染发生率和 EB 升高率综合判断，3 次试验结果表明，YQFM 20140105 和 20140804 两个批次均未发生类过敏反应。说明采用小鼠耳廓蓝染类过敏方法来考察 YQFM 可行，方法重复性好。

(2) “沿耳根剪下双耳，鼠毛包被的位置应不剪到”的规定能够消除不同试验人员操作的人为误差；各组分别进行拍照，保证了原始数据的可追溯性。

(3) 标准曲线的确定：1、0.75、0.5、0.25、0.2、0.125、0.0 625  $\mu\text{g}/\text{mL}$  范围内，回归方程为  $y=0.0 381x+0.0 011$ ， $R^2=0.9 991$ ，且相关系数检验  $P<0.05$ ，表明低浓度 EB 与  $A$  值存在良好的线性相关性。在后续的试验中，我们可以提高 EB 的含量，如用 1 mL 的甲酰胺浸泡鼠耳，从而使含鼠耳的 EB 浓度升高，在测定时能落在标准曲线的范围内，提高试验数据的精确性。

## 5 讨论

关于动物试验中的方法学研究目前没有具体法规介绍，为将小鼠耳廓蓝染类过敏检测方法转为

企业标准，我们进行了大量的深入研究。要建立可控的方法学，首先从类过敏试验采用的动物进行考察，通过查阅文献确定小鼠的品系为雄性 ICR<sup>[3]</sup>；其次从 EB 的萃取时间、专属性、标准曲线的浓度考察等方面保证了试验数据的准确性。另外从其他细节如小鼠鼠耳的取材部位、拍照原则等均进行了具体的规定，最终该方法学形成一套严格可执行的标准作业程序 (SOP)，用于 YQFM 的日常检验中。

本次试验中采取 YQFM 1 800 mg/kg，为人用临床等效剂量的 1.97 倍，是人用临床使用浓度的 4.34 倍，该剂量的选择大于文献<sup>[5]</sup>中 3 个中药注射剂：清开灵注射液为临床给药浓度的 0.375、0.750、1.500 倍，临床剂量的 1/2、等倍和 2 倍；生脉注射液为临床给药浓度的 2、3.3 倍，临床剂量的 1、1.67 倍；鱼腥草注射液为临床给药浓度的 1/2、0.83 倍，临床等效剂量的等倍、1.67 倍。文献中指出，中药注射剂的不良反应与浓度剂量具有明显相关性，本试验结果说明 YQFM 安全较高。

在将方法学用于企业标准的过程中，最大的难点是评判标准的确定，标准过严，可能存在大量的假阳性；标准过宽，方法学即失去了标准的意义。只有在大量的试验条件的摸索验证和本产品结果的基础上才能确定，企业可以根据自身产品的质量水平，适当调整给药剂量和给药浓度，来提高产品的内控标准。但是其前提是需要对大量产品类过敏反应进行考察，通过积累的数据，确定本品是否有提高的必要性和可能性，兼顾产品的安全性和出厂合格率，同时结合该批次产品其他质控指标进行综合分析，确定该批次产品是否放行。

中药注射剂的安全性问题受到业界和公众的广泛关注，提高中药注射剂的内在质量是紧迫的产业问题，国家鼓励企业自主开发新的药品安全评价方法，而如何将生物评价方法转化为企业标准，目前国家尚无此类指导原则给予帮助。我们尝试将小鼠耳廓蓝染法类过敏评价方法转化为企业标准，对于中药注射剂厂家来说，提供了一定的参考技术思路。

## 参考文献

- [1] 韩佳寅, 易 艳, 梁爱华. 药物过敏和类过敏的临床前评价要求概述 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(14): 2685-2689.

(下转第 428 页)

- [5] 朱蓉祥, 韩清华. 注射用益气复脉治疗冠心病介并心力衰竭的疗效观察 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2014, 12 (6): 669-671.
- [6] 薛立新, 王慧俐, 雷 星, 等. 注射用益气复脉(冻干)对慢性心力衰竭患者心功能及血浆脑钠肽的影响 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2014, 12(3): 279-280.
- [7] 赵春杰, 曹明英. 益气复脉联合前列地尔治疗老年人心功能不全伴不稳定心绞痛临床观察 [J]. 中华老年医学杂志, 2014, 33(7): 745-747.
- [8] 孙兰军, 郑偕扣, 郝长颖. 注射用益气复脉(冻干)治疗冠心病心力衰竭的多中心临床研究 [J]. 中国当代医药, 2012, 19(17): 7-10.
- [9] 冯 强, 黄惠红, 朱婷婷. 中药注射剂溶媒类型、滴速与中药注射剂不良反应相关性分析 [J]. 河南中医, 2015, 35(12): 3200-3202.
- [10] 梅全喜, 曾聪彦. 中药注射剂的安全合理使用 [J]. 药品评价, 2010, 7(14): 10.
- [11] 马 宁, 侯雅竹, 王贤良, 等. 注射用益气复脉(冻干)不良反应文献研究与分析 [J]. 中国新药杂志, 2015, 24 (10): 1197-1200.

---

(上接第410页)

- [2] 梁爱华, 易 艳, 张宇实, 等. 中药注射剂的类过敏反应及其风险防控 [J]. 中国药学杂志, 2015, 50(15): 1301-1308.
- [3] 易 艳, 李春英, 张宇实, 等. 3种中药注射剂类过敏反应评价及其机制探讨 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(14): 2717-2722.
- [4] 国家食品药品监督管理局. 中药注射剂安全性再评价非临床研究评价技术原则(试行) [S]. 2010.
- [5] 李 伟, 武璐璐, 姜 华, 等. 中药注射剂过敏及类过敏反应体外评价方法的初步建立 [J]. 世界中西医结合杂志, 2016, 1(3): 416-423.
- [6] 刘兆华. 应用豚窝淋巴结试验研究注射用双黄连的致敏性 [D]. 济南: 山东大学, 2010.
- [7] 梁爱华, 李春英, 刘 婷, 等. 中药注射剂的类过敏实验动物模型和实验方法研究 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2010, 12(6): 998-1004.
- [8] 张宇实, 易 艳, 李春英, 等. 中药注射剂类过敏反应临床前评价: 动物品系和性别差异研究 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(14): 2717-2722.
- [9] 梁爱华, 赵 雍, 李春英, 等. 药物类过敏反应的临床前评价方法研究(II)——大鼠皮肤类过敏试验 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(13): 1871-1874.