

RBL-2H3 细胞脱颗粒模型评价注射用丹参多酚酸的安全性

周大铮¹, 肖 辉^{1, 2}, 万梅绪^{1, 2}, 李 智^{1, 2}, 李德坤^{1, 2*}, 鞠爱春^{1, 2*}

1. 天津市中药注射剂安全性评价企业重点实验室, 天津 300410

2. 天津天士力之骄药业有限公司, 天津 300410

摘要: 目的 通过RBL-2H3肥大细胞脱颗粒模型考察注射用丹参多酚酸及丹参多酚酸B、D的致敏性。方法 RBL-2H3肥大细胞分为对照(PBS)组、C48/80(阳性对照, 4 mg/mL)组和梯度浓度(0.025、0.050、0.100、0.200、0.400、0.800 mg/mL)的注射用丹参多酚酸、丹参多酚酸B、丹参多酚酸D组, 孵育30 min后, 通过中性红染色试验观察脱颗粒现象, 化学荧光法测定组胺释放率, 酶联免疫吸附(ELISA)法测定 β -氨基己糖苷酶释放率、类胰蛋白酶释放量。结果 与对照组比较, 阳性药C48/80组、质量浓度 ≥ 0.2 mg/mL的丹参多酚酸B组、质量浓度 ≥ 0.4 mg/mL的丹参多酚酸D组、质量浓度为0.8 mg/mL的注射用丹参多酚酸组的细胞脱颗粒度显著升高($P < 0.01, 0.05$); 注射用丹参多酚酸没有引起RBL-2H3细胞组胺释放率增加, C48/80组、质量浓度 ≥ 0.025 mg/mL的丹参多酚酸D组、0.8 mg/mL的丹参多酚酸B组组胺释放率即显著升高($P < 0.001, 0.05$); 注射用丹参多酚酸和丹参多酚酸B组类胰蛋白酶释放量无显著性差异, 质量浓度 ≥ 0.025 mg/mL的丹参多酚酸D组类胰蛋白酶释放量显著增加($P < 0.001$); 注射用丹参多酚酸没有引起 β -氨基己糖苷酶释放率增加, 0.8 mg/mL的丹参多酚酸D组、质量浓度 ≥ 0.1 mg/mL的丹参多酚酸B组的 β -氨基己糖苷酶释放率显著增加($P < 0.001$)。结论 注射用丹参多酚酸在致敏性方面有较好的安全性。

关键词: 注射用丹参多酚酸; RBL-2H3细胞; 组胺; 类胰蛋白酶; β -氨基己糖苷酶; 类过敏

中图分类号: R965.3 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2021) 11-2403-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2021.11.016

Evaluate safety of Salvianolic Acid for Injection with RBL-2H3 cell degranulation model

ZHOU Dazheng¹, XIAO Hui^{1, 2}, WAN Meixu^{1, 2}, LI Zhi^{1, 2}, LI Dekun^{1, 2}, JU Aichun^{1, 2}

1. Tianjin Key Laboratory of Safety Evaluation Enterprise of Traditional Chinese Medicine Injections, Tianjin 3004102, China

2. Tianjin Tasly Pride Pharmaceutical Co., Ltd., Tianjin 300410, China

Abstract: Objective To study the sensitization of salvianolic acid B, D and Salvianolic Acid for Injection by RBL-2H3 mast cell degranulation model. **Methods** RBL-2H3 mast cells were divided into control group (PBS), C48/80 (positive control, 4 mg/mL) group and salvianolic acid, salvianolic acid B and salvianolic acid D groups at gradient concentrations (0.025, 0.050, 0.100, 0.200, 0.400, 0.800 mg/mL) for injection. After incubation for 30 min, degranulation was observed by neutral red staining test. The release rate of histamine was determined by chemofluorescence method, and the release rate of β -hexaminosidase was determined by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** Compared with control group, the cell degranulation degree of positive drug C48/80 group, salvianolic acid B group with mass concentration ≥ 0.2 mg/mL, salvianolic acid D group with mass concentration ≥ 0.4 mg/mL and Salvianolic Acid for Injection group of 0.8 mg/mL were significantly increased ($P < 0.01, 0.05$). The histamine release rate of RBL-2H3 cells was not increased by Salvianolic Acid for Injection. The histamine release rate of C48/80 group, salvianolic acid D group with mass concentration ≥ 0.025 mg/mL and salvianolic acid B group of 0.8 mg/mL were significantly increased ($P < 0.001, 0.05$). There was no significant difference in trypsinoid release between Salvianolic Acid for Injection and salvianolic acid B group, but the trypsinoid release of salvianolic acid D group with mass concentration ≥ 0.025 mg/mL was significantly increased ($P < 0.001$). The release rate of β -hexaminosidase was not increased by Salvianolic Acid for Injection, but significantly increased by 0.8 mg/mL salvianolic acid D and with mass concentration ≥ 0.1 mg/mL salvianolic acid B ($P < 0.001$).

收稿日期: 2021-07-28

第一作者: 周大铮, 男, 博士, 研究方向为中药药理药效研究。E-mail: zhoudz@tasly.com

*共同通信作者: 鞠爱春, 男, 高级工程师, 研究方向为中药注射剂工艺及质量控制。E-mail: juach@tasly.com

李德坤, 男, 高级工程师, 主要从事中药工艺、质量控制、中药药理及药物警戒研究。E-mail: lidekun@tasly.com

Conclusion Salviolic Acid for Injection has good safety.

Key words: Salviolic Acids for Injection; RBL-2H3 cells; histamine; trypsin like; β -aminohexosaminidase; type of allergy

过敏反应也称作超敏反应,是由IgE介导的速发型变态反应,在临床中药注射剂引起的不良反应中占主要地位^[1-4],类过敏反应被称为假过敏反应,指药物首次进入机体后引起的过敏样症状,其机制可能与肥大细胞脱颗粒、激活补体系统,引起释放组胺或其他血管活性因子等生物活性介质有关。肥大细胞是参与过敏反应的主要效应细胞,胞浆含有大量的嗜碱性颗粒,当受到免疫介导或药理性介导刺激时,会发生脱颗粒释放各种活性介质,例如组胺、 β -氨基己糖苷酶、类胰蛋白酶等,导致机体产生过敏反应^[5-9]。RBL-2H3细胞是大鼠嗜碱性粒细胞,细胞表面表达IgE高亲和力受体,具有肥大细胞的多种生物学特性,是一种早期、稳定且敏感的肥大细胞脱颗粒检测模型^[10]。

中药注射剂是在中医理论指导下,应用现代化的科学技术手段,提取中药药物有效作用成分而成的中药注射剂型,在临床危急重症的治疗中发挥重要作用。随着中药注射剂在临床上广泛应用,不断出现过敏性的不良反应病例,多首发于用药后的30 min内,而类过敏反应占77%以上^[11-12],注射用丹参多酚酸主要成分为丹参多酚酸B、丹参多酚酸D、迷迭香酸、紫草酸等,具有良好的活血、化瘀、通脉等功效^[13],多用于轻中度脑卒中恢复期的瘀血阻络症,是治疗效果显著的活血通络类中药注射剂。本研究通过检测丹参多酚酸注射液、丹参多酚酸B以及丹参多酚酸D对RBL-2H3细胞脱颗粒模型的组胺、 β -氨基己糖苷酶、类胰蛋白酶释放率的影响,评估其在引起类过敏方面的安全性。

1 材料

1.1 药品和主要试剂

注射用丹参多酚酸(批号20180902,每支装0.13 g,含丹参多酚酸100 mg)购于天津天士力之骄药业有限公司;丹参多酚酸B(批号MUST-18070503)、丹参多酚酸D(批号MUST-1811901)均购于成都曼思特生物科技有限公司;邻苯二甲醛(批号SLBR8497V)、Triton-100裂解液(批号SLBR8497V)、 β -氨基己糖苷酶检测试剂盒(批号126M4176V),均购于美国Sigma公司;DMEM培养基(批号1929918)、PBS缓冲溶液(批号1897215)、胰酶(批号1951055)均购于美国Gibco公司;胎牛血清(批号DB10194785)购于美国Hyclone公司;青-

链霉素双抗(碧云天生物技术有限公司,批号C0222);甲醇(天津市康科德科技有限公司);盐酸(天津威晨化学试剂科贸有限公司);氢氧化钠(天津市风船化学试剂科技有限公司);类胰蛋白酶ELISA检测试剂盒(批号1180531302)购于美国Cloud-Clone公司;RAT(IgE)ELISA检测试剂盒(批号m1037602)购于上海酶联生物科技有限公司。

1.2 主要仪器

HERAcell 2401细胞培养箱,美国Thermo公司;Tecan Infinite F200/M200多功能酶标仪,瑞士TECAN公司;DMi1倒置显微镜,德国Leica公司;Scepter2.0细胞计数仪,美国Millipore公司;Micro 21R高速离心机,美国Thermo公司;JS703C电子分析天平,瑞士Mettler公司。

2 方法

2.1 细胞株及培养条件

RBL-2H3细胞购自中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心,用含10%胎牛血清、 1×10^5 U/L青霉素和 1×10^5 U/L链霉素的DMEM培养基,于37℃、5% CO₂、饱和湿度的培养箱中传代培养,取对数生长期细胞进行实验。

2.2 细胞生长曲线测定

取生长状况良好的RBL-2H3细胞,调整细胞浓度梯度依次为 2.5×10^4 、 5×10^4 、 7.5×10^4 、 1×10^5 、 1.5×10^5 /mL,细胞均匀接种于96孔细胞培养板,每孔加细胞悬液200 μ L,37℃、5% CO₂、饱和湿度培养箱中连续孵育24、48、72、96、120 h。每孔加入20 μ L CCK-8溶液,继续孵育30 min后终止孵育,用酶联免疫检测仪在450 nm波长处测定其吸光度(A)值,根据检测数据绘制细胞生长曲线图。

2.3 细胞脱颗粒度测定

取生长状况良好的RBL-2H3细胞,调整浓度为 1×10^5 /mL,均匀接种于96孔板,每孔加细胞悬液200 μ L,于37℃、5% CO₂条件下培养48 h。实验设置对照(PBS)组、C48/80(阳性对照,4 mg/mL)组和梯度浓度(0.025、0.050、0.100、0.200、0.400、0.800 mg/mL)的注射用丹参多酚酸、丹参多酚酸B、丹参多酚酸D组,于37℃、5% CO₂、饱和湿度的培养箱中孵育30 min,吸出细胞上清并吸干,每孔加入1%中性红染液1 mL,混匀,于37℃培养箱中染色30 min,弃去染液,PBS缓冲液清洗2~3次,倒置显微镜

下观察细胞脱颗粒情况,计算细胞脱颗粒度。

脱颗粒度=脱颗粒细胞数/细胞总数

2.4 组胺释放率测定

细胞接种、给药操作同“2.3”项。37℃孵育30 min。取细胞上清100 μL置于测试板中,加入50 μL 0.4 mol/L NaOH(空白组加入150 μL NaOH溶液),加入0.1%邻苯二甲醛-甲醇溶液10 μL,混匀,室温放置10 min,加入50 μL 0.5 mol/L HCl终止反应,立即用酶标仪检测A值(入射波长360 nm,发射波长450 nm)。

剩余的细胞板每孔加入200 μL 0.5%的Triton100-PBS溶液裂解,37℃孵育30 min后,取细胞裂解液100 μL检测组胺,计算组胺释放率。

组胺释放率=($A_{\text{上清}} - A_{\text{空白}}$)/($A_{\text{上清}} + A_{\text{裂解}} - A_{\text{空白}}$)

2.5 β-氨基己糖苷酶释放率测定

待测样品为“2.3”项中细胞的上清和裂解液,平衡至室温,在96孔板中进行实验,设置实验组和空白组。实验组每孔均匀加入待测上清10 μL,立即加入90 μL基底溶液(用10 mL的0.09 mol/L的柠檬酸盐溶液溶解的4-硝基苯-N-乙酰基-酞基酞酸盐葡萄糖胺,质量浓度为1 mg/mL);空白组每孔加入100 μL基底溶液,37℃孵育30 min。然后每孔加入200 μL终止液(5 g的碳酸钠溶于118 mL的超纯水中,质量浓度为42.37 mg/mL)终止反应,混合均匀后立即在酶标仪405 nm处检测A值。上清和裂解液需分开测定,实验步骤相同,计算β-氨基己糖苷酶释放率。

β-氨基己糖苷酶释放率=($A_{\text{上清}} - A_{\text{空白}}$)/($A_{\text{上清}} + A_{\text{裂解}} - A_{\text{空白}}$)

2.6 类胰蛋白酶释放量测定

待测样品为“2.3”项中冻存的上清,分别设置标准品组和实验组。每孔分别加入100 μL标准品和待测样品,37℃孵育1 h。弃液,每孔加检测溶液A工作液100 μL,37℃孵育1 h。弃液,重复洗板4次。加检测溶液B工作液100 μL,37℃孵育30 min。弃液,重复洗板5次。每孔加3,3',5,5'-四甲基联苯胺底物溶液90 μL,37℃避光反应20 min,每孔加入50 μL终止液,终止反应,立即用酶标仪在450 nm波长处检测A值。类胰蛋白酶释放量的计算:根据样品的A值,由标准曲线查出相应样品的浓度。

3 结果

3.1 细胞生长曲线

如图1所示,RBL-2H3细胞接种密度为 1×10^5 /mL,周期性明显;铺板时间为48~72 h,细胞呈对数生长期,适宜用于试验。实验采用的铺板细胞密度

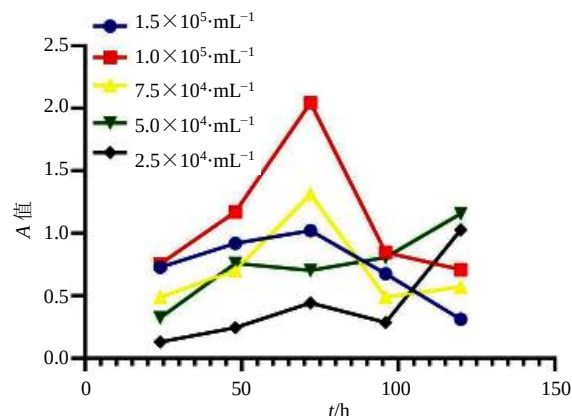


图1 RBL-2H3细胞的生长曲线

Fig. 1 Growth curve of RBL-2H3 cells

为 1×10^5 /mL,孵育时间为48 h。

3.2 RBL-2H3细胞脱颗粒度

与对照组比较,阳性药C48/80组、质量浓度 ≥ 0.2 mg/mL的丹参多酚酸B组、质量浓度 ≥ 0.4 mg/mL的丹参多酚酸D、质量浓度为0.8 mg/mL的注射用丹参多酚酸组的细胞脱颗粒度显著升高($P < 0.01, 0.05$)。见表1。

表1 丹参多酚酸B、丹参多酚酸D、注射用丹参多酚酸对RBL-2H3细胞脱颗粒度影响

Table 1 Effects of salvianolic acid B, salvianolic acid D and Salvianolic Acid for Injection on degranulation rate of RBL-2H3 cells

组别	质量浓度/(mg·mL ⁻¹)	脱颗粒度/%
对照	—	12.57±1.27
C48/80	2	78.89±1.41**
丹参多酚酸B	0.800	32.01±1.82**
	0.400	25.38±1.01*
	0.200	17.70±1.43*
	0.100	13.40±0.24
	0.050	10.70±0.71
丹参多酚酸D	0.025	11.23±0.61
	0.800	20.62±1.83*
	0.400	15.48±1.37*
	0.200	13.52±0.97
	0.100	11.31±0.86
注射用丹参多酚酸	0.050	12.54±0.77
	0.025	10.23±0.62
	0.800	15.67±0.84*
	0.400	12.97±0.73
	0.200	13.54±0.91
	0.100	9.54±0.75
	0.050	10.26±0.67
	0.025	8.46±0.97

与对照组比较:* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group

3.3 组胺释放率测定

如图2所示,与对照组比较,注射用丹参多酚酸没有引起RBL-2H3细胞组胺释放率增加;阳性药C48/80组组胺释放率显著增加($P < 0.001$);丹参多酚酸B和丹参多酚酸D组的组胺释放率呈浓度正相关,丹参多酚酸D最小浓度的组胺释放率即显著高于对照组($P < 0.001$);质量浓度为0.8 mg/mL的丹参多酚酸B组的组胺释放率显著高于对照组($P < 0.001$)。

3.4 类胰蛋白酶测定

如图3所示,注射用丹参多酚酸、丹参多酚酸B

和丹参多酚酸D引起RBL-2H3细胞释放类胰蛋白酶呈剂量相关性增加,与对照组比较,注射用丹参多酚酸和丹参多酚酸B组无显著性差异;质量浓度 ≥ 0.025 mg/mL的丹参多酚酸D组差异显著($P < 0.05$)。

3.5 β -氨基己糖苷酶测定

如图3所示,与对照组比较,注射用丹参多酚酸各给药组没有引起 β -氨基己糖苷酶释放率增加;而0.8 mg/mL的丹参多酚酸D组 β -氨基己糖苷酶释放率显著增加($P < 0.05$),质量浓度 ≥ 0.1 mg/mL的丹参多酚酸B的 β -氨基己糖苷酶释放率显著增加($P < 0.05$)。

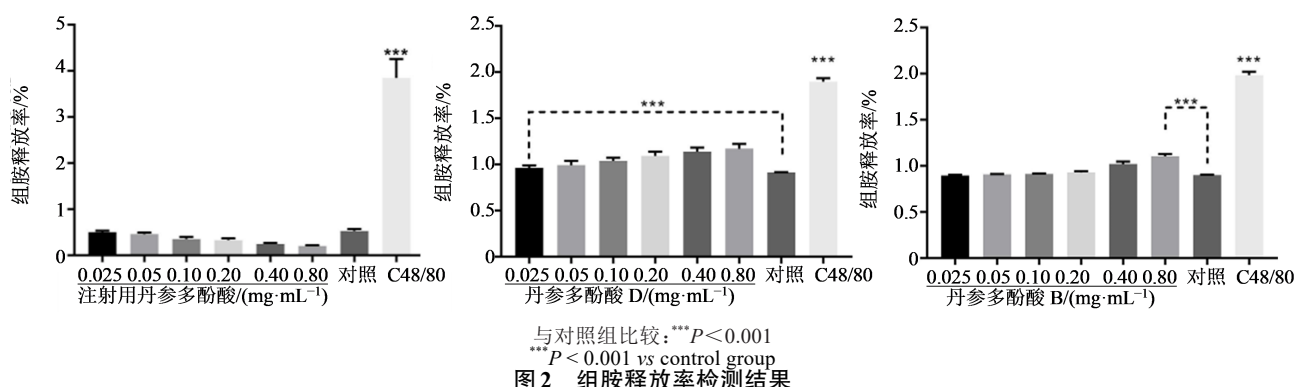


图2 组胺释放率检测结果

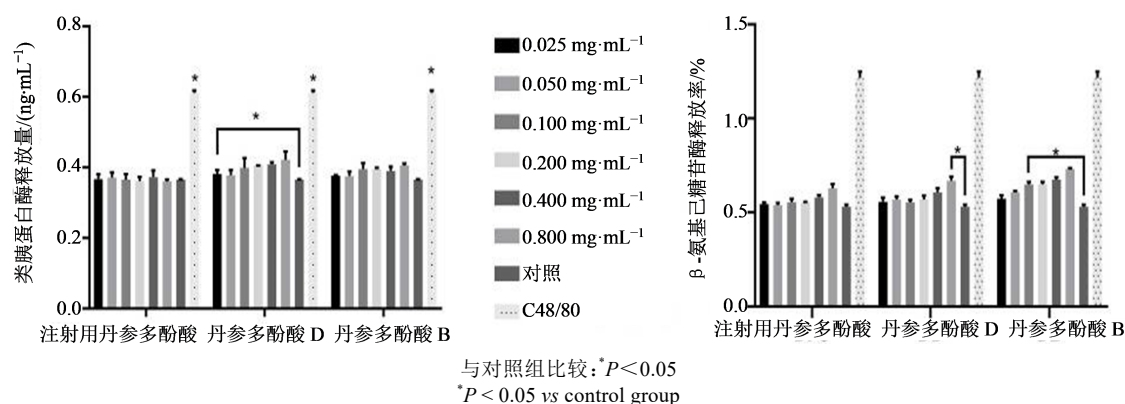


图3 类胰蛋白酶释放量和 β -氨基己糖苷酶释放率检测结果

4 讨论

中药注射剂成分复杂,引起过敏反应的因素比较多,目前的研究表明,中药注射剂的临床不良反应主要是过敏反应与类过敏反应。过敏反应是免疫介导的反应,其中免疫反应介导的I型过敏为特异性抗体(IgE)介导的变态反应,临床表现包括皮肤、黏膜红疹、轻微皮疹,水肿腹痛,恶心呕吐,腹泻等。而类过敏是不依赖于特异性抗体的反应,是激活补体系统、促进肥大细胞及嗜碱性粒细胞分泌组胺、类胰蛋白酶以及其他炎症因子从而引起机体产生生理及病理的变化^[14-20]。因此类过敏反应的体外研究模型大都以肥大细胞为研究对象,检测类过敏介

质的释放情况,依据上述病理机制,本实验通过药物刺激肥大细胞系中的RBL-2H3细胞,中性红染色试验观察其形态学特征,此方法简单,价格低廉,故适用于作粗略评估或大量药物的筛选。C48/80是一种人工合成的多胺类化合物,由甲醛和N-甲基-对甲氧基苯乙胺缩合产生,可作用于肥大细胞及嗜碱性粒细胞等细胞膜,常作为刺激细胞过敏性介质及细胞因子释放剂。此外,利用C48/80刺激细胞能够模拟体内、外细胞脱颗粒的过程及临床反应^[6-7]。实验结果发现,质量浓度高于0.2 mg/mL的丹参多酚酸B、质量浓度高于0.4 mg/mL的丹参多酚酸D组脱颗粒现象比较显著,丹参多酚酸D各组促进组胺释放明显、

浓度高于0.2 mg/mL的丹参多酚酸B组 β -氨基己糖苷酶释放率显著,而注射用丹参多酚酸仅有最高浓度0.8 mg/mL引起的RBL-2H3细胞脱颗粒、没有引起显著的组胺、 β -氨基己糖苷酶及类胰蛋白酶释放现象。此结果可能与注射用丹参多酚酸虽然含有丹参多酚酸B、丹参多酚酸D,但是也包含迷迭香酸、紫草酸以及其他制剂中的成分抑制细胞脱颗粒及致敏因子的释放有关。

本研究通过检测注射用丹参多酚酸、丹参多酚酸B、丹参多酚酸D对RBL-2H3细胞脱颗粒度及致敏因子释放的影响,发现注射用丹参多酚酸几乎不引起RBL-2H3细胞脱颗粒及组胺、 β -氨基己糖苷酶、类胰蛋白酶的释放,在致敏性方面具有很好的安全性,是一种安全性良好的中药注射用制剂。注射用丹参多酚酸组抑制组胺释放这一方向值得进一步研究,进一步分析何种成分有抑制组胺释放作用。推测关于该药物在临床上出现的少数寒战、皮疹等不良反应可能不是由于细胞脱颗粒及组胺、 β -氨基己糖苷酶、类胰蛋白酶的释放导致。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 王丹丹, 张虹. 循证医学对中药注射剂临床再评价的指导作用[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(13): 1716-1720.
Wang D D, Zhang H. Guiding effect of evidence-based medicine on clinical reevaluation of Traditional Chinese medicine injections [J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2019, 36(13): 1716-1720.
- [2] 武晓红. 中药注射剂不良反应与安全性评价研究[J]. 山西中医学院学报, 2019, 20(1): 76-77, 79.
Wu X H. study on adverse reactions and safety evaluation of TCM injection [J]. J Shanxi Coll Tradit Chin Med, 2019, 20(1): 76-77, 79.
- [3] 周国威. 活血化瘀类中药注射剂药品不良反应临床研究[J]. 中国处方药, 2018, 16(10): 58-59.
Zhou G W. Clinical study on adverse drug reactions of traditional Chinese medicine injection of promoting blood circulation and removing blood stasis [J]. China Prescr Drug, 2018, 16(10): 58-59.
- [4] 易艳, 李春英, 赵雍, 等. 动物类中药注射剂的安全性研究进展[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(22): 4391-4396.
Yi Y, Li C Y, Zhao Y, et al. Safety of animal traditional Chinese medicine (TCM) injections [J]. China J Chin Mater Med, 2018, 43(22): 4391-4396.
- [5] Falcone F H, Wan D, Barwary N, et al. RBL cells as models for in vitro studies of mast cells and basophils [J]. Immunol Rev, 2018, 282(1): 47-57.
- [6] Siebenhaar F, Redegeld F A, Bischoff S C, et al. Mast cells as drivers of disease and therapeutic targets [J]. Trends Immunol, 2018, 39(2): 151-162.
- [7] Shik D, Tomar S, Lee J B, et al. IL-9-producing cells in the development of IgE-mediated food allergy [J]. Semin Immunopathol, 2017, 39(1): 69-77.
- [8] Passante E, Frankish N. The RBL-2H3 cell line: its provenance and suitability as a model for the mast cell [J]. Inflamm Res, 2009, 58(11): 737-745.
- [9] Matsuda H, Nakamura S, Yoshikawa M. Degranulation inhibitors from medicinal plants in antigen-stimulated rat basophilic leukemia (RBL-2H3) cells [J]. Chem Pharm Bull (Tokyo), 2016, 64(2): 96-103.
- [10] Sun N, Zhou C, Zhou X, et al. Use of a rat basophil leukemia (RBL) cell-based immunological assay for allergen identification, clinical diagnosis of allergy, and identification of anti-allergy agents for use in immunotherapy [J]. J Immunotoxicol, 2015, 12(2): 199-205.
- [11] 刘丽鹤, 尹利辉, 金少鸿. 中药注射剂过敏反应体外评价方法研究进展[J]. 药物分析杂志, 2013, 33(8): 1439.
Liu L H, Yin L H, Jin S H. Review on *in vitro* experimental methods for evaluating hypersensitivity of traditional Chinese medicine injections [J]. Chin J Med Anal, 2013, 33(8): 1439.
- [12] 谭乐俊, 王萌, 朱彦, 等. 中药注射剂的不良反应研究进展[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(20): 3889-3898.
Tan L J, Wang M, Zhu Y, et al. Research progress on adverse reactions of Traditional Chinese medicine injection [J]. China J Chin Mater Med, 2014, 39(20): 3889-3898.
- [13] 李德坤, 苏志刚, 万梅绪, 等. 注射用丹参多酚酸药理作用及临床应用研究进展[J]. 药物评价研究, 2019, 42(2): 353-361.
Li D K, Su Z G, Wan M X, et al. Pharmacological effect and clinical application of *Salvia miltiorrhiza* Polyphenolic Acid for Injection [J]. Drug Eval Res, 2019, 42(2): 353-361.
- [14] Rothenberg M E, Saito H, Peebles R S. Advances in mechanisms of allergic disease in 2016 [J]. J Allergy Clin Immunol, 2017, 140(6): 1622-1631.
- [15] 唐浩伦, 刘悦, 解生旭, 等. 中药注射剂过敏及类过敏反应机制及评价方法概述[J]. 中国中西医结合杂志, 2018, 38(4): 508-512.
Tang H L, Liu Y, Xie S X, et al. Mechanism and evaluation method of allergy and anaphylactoid reaction of TCM injections [J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2018, 38(4): 508-512.
- [16] Wang L, Zhao Y, Yang Y, et al. Allergens in red ginseng extract induce the release of mediators associated with anaphylactoid reactions [J]. J Transl Med, 2017, 15(1): 148.
- [17] 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): 2711-2716.
Yi Y, Li C Y, Zhang Y S, et al. Evaluation and mechanism of anaphylaxis of three traditional Chinese medicine injections [J]. China J Chin Mater Med, 2015, 40(14): 2711-2716.
- [18] Church M K. Allergy, histamine and antihistamines [J]. Handb Exp Pharmacol, 2017, 241: 321-331.
- [19] Xu Y, Liu C, Dou D, et al. Evaluation of anaphylactoid constituents *in vitro* and *in vivo* [J]. Int Immunopharmacol, 2017, 43: 79-84.
- [20] Waheed A, Hill T, Dhawan N. Drug allergy [J]. Prim Care: Clin Off Pract, 2016, 43(3): 393-400.

[责任编辑 兰新新]