

中药注射剂致敏的实验模型及检测方法研究进展

逯晓宇^{1, 2, 3#}, 孙 鸽^{2, 3#}, 郭婷婷^{2, 3}, 秦秀军^{2, 3*}

1. 山西医科大学 公共卫生学院劳动卫生学教研室, 山西 太原 030001

2. 中国辐射防护研究院放射医学与环境医学研究所, 山西 太原 030006

3. 药物毒理与放射损伤药物山西省重点实验室/中核放射毒理与放射性药物临床前评价重点实验室, 山西 太原 030006

摘 要: 随着中药注射剂在临床上应用的日益广泛, 其不良反应成为中药安全评价研究的热点和难点之一, 日渐引起重视。中药注射剂常导致I型过敏反应及类过敏反应, 近年来针对这2种过敏反应已经开发出多种细胞、类过敏反应动物模型、I型过敏反应动物模型以及酶联免疫吸附(ELISA)法、高通量筛选分离方法、虚拟技术筛选等。通过综述近年来中药注射剂致敏实验模型及检测方法原理、适用性及局限性, 以期建立新型过敏原筛选方法、寻找中药注射剂过敏原和研究潜在致敏机制提供更多参考。

关键词: 中药注射剂; I型过敏反应; 类过敏反应; 细胞模型; 动物模型

中图分类号: R285.5; R943 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2023)11-2482-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.11.026

Research progress on experimental models and detection methods of sensitization by traditional Chinese medicine injections

LU Xiaoyu^{1, 2, 3}, SUN Ge^{2, 3}, GUO Tingting^{2, 3}, QIN Xiujun^{2, 3}

1. Department of Labor Health, School of Public Health, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China

2. Department of Radiology and Environment Medicine, China Institute for Radiation Protection, Taiyuan 030006, China

3. Key Laboratory of Drug Toxicology and Radiation Damage Drugs of Shanxi Province / Key Laboratory of Mesonuclear Radiation Toxicology and Preclinical Evaluation of Radiopharmaceuticals, Taiyuan 030006, China

Abstract: With the increasing application of traditional Chinese medicine (TCM) injection in clinic, the adverse reactions have become one of the hot spots and difficulties in the study of TCM safety evaluation, and has increasingly attracted people's attention. TCM injections often cause type I allergic reaction and anaphylactoid reactions. In recent years, a variety of cells, animal models of anaphylactoid reaction, animal models of type I anaphylactoid reaction, and ELISA, a variety of high-throughput screening and isolation methods, and virtual technology screening have been developed for these two kinds of allergic reactions. In this paper, the principles, applicability and limitations of experimental models and detection methods for sensitization of traditional Chinese medicine injections in recent years are reviewed, in order to provide more references for establishing new screening methods for allergens, finding allergens for TCM injections, and studying potential sensitization mechanisms.

Key words: traditional Chinese medicine injections; type I allergic reaction; anaphylactoid reactions; cell model; animal model

中药注射剂是将中草药的一种或多种纯化提取物制备成溶液、乳剂、粉剂或浓缩溶液的形式注入人体的无菌制剂^[1]。与传统中药相比, 中药注射剂具有生物利用度高、作用迅速等特点, 被广泛用

于治疗多种疾病, 包括急性下肢深静脉血栓、癌症、特发性肺纤维化等^[2-4]。随着中药注射剂过敏反应的报道不断增多^[5], 其安全性评价成为研究热点。游鹏程等^[6]对138例红花黄色素注射液不良反应病

收稿日期: 2023-05-03

基金项目: 山西省科技合作交流专项项目(202104041101032); 中国辐射防护研究院自主科研项目(YP21010202)

#共同第一作者: 逯晓宇(1996—), 女, 在读硕士, 研究方向为药物毒理。E-mail: qwe1921290136@163.com

孙 鸽(1982—), 女, 副研究员, 研究方向为药物毒理。E-mail: sg712712@ sina. cn

*通信作者: 秦秀军(1979—), 男, 研究方向为药物毒理。E-mail: xiujunqin@163.com

例进行统计分析,发现其中仅有22.46%为合理用药。不合理用药成为中药注射剂不良反应的重要隐患,而且中药注射剂化学成分复杂,致敏成分不明确,质量控制难度高^[7],影响到患者的用药安全,在一定程度上阻碍了该剂型的发展。

I型超敏反应和类过敏反应是中药注射剂常出现的过敏反应,其中类过敏反应约占到77%^[8]。已致敏的机体再次接触相同抗原,由特异性免疫球蛋白E(IgE)抗体介导肥大细胞,嗜碱性粒细胞释放活性介质引起局部或全身反应,被称为I型过敏反应。由非IgE介导,首次给药30 min内即可发生局部或系统性的急性过敏反应,被称为类过敏反应^[9]。本文综述了近年来在中药注射剂致敏实验模型和检测方法方面的研究进展,包括动物细胞模型、酶联免疫吸附(ELISA)法、高通量免疫指纹图谱法、细胞膜色谱法、超滤法和虚拟技术筛选法等。其中动物模型分为类过敏反应和I型过敏反应动物模型,能将临床上经常混淆的I型过敏反应和类过敏反应区分开。通过总结归纳以期探究过敏原,降低中药注射剂的不良反应以及临床安全用药提供参考。

1 实验模型

近年来国内外建立的药物过敏反应临床前评价方法主要从体内动物模型和体外细胞模型入手,常用的研究模型包括以下6种。

1.1 体内动物模型

过敏反应临床前评价的体内动物模型主要包括类过敏反应动物模型、I型过敏反应动物模型。

1.1.1 类过敏反应动物模型 基于毛细血管通透性增高特性,建立小鼠和大鼠类过敏检测模型,其中小鼠耳廓蓝染的试验方法应用较为广泛。伊文思蓝(EB)与血液中白蛋白具有高度的亲和力,类过敏反应发生时,白蛋白-EB复合物可渗出血管外,造成组织蓝染^[10]。通过设立中药注射剂不同剂量组,阴阳性对照组,以伊文思蓝(EB)作为指示剂,给药后30 min内,观察小鼠的行为学变化、耳廓蓝染情况及伊文思蓝渗出量;检测生化指标如组胺炎症因子等;观察耳和肺等组织病理学改变综合评价类过敏反应强度。李璎峪等^[11]对双黄连注射液及参麦注射液诱发类过敏反应进行探讨,其可能有致敏的作用,与对照组相比,阳性组与各药物组的小鼠耳廓出现不同程度蓝染。

崔宏玉等^[12]利用大鼠皮肤类过敏模型,以蓝斑大小为指标对中药注射剂进行类过敏评价。皮内注射15 min后,结果发现清开灵注射液25、50 μL组

随着剂量的增高,蓝斑直径增大。但以药物致皮肤蓝斑直径的大小作为标准,存在一定主观性,康黎静等^[13]提供了一个更客观、更准确的评定方法和标准,即同只动物给药部位与对照部位皮肤蓝斑伊文思蓝渗出量(OD)的比值。

药物类过敏性检测至今尚无成熟而可靠的动物模型或试验方法。易艳等^[14]探讨不同品系小鼠的类过敏反应特点,相比BALB/c和C57小鼠,ICR和昆明小鼠的类过敏反应更强。张宇实等^[15]提出在小鼠类过敏试验中,ICR小鼠作为首选动物,其次可选用昆明小鼠。此外,雌雄性别差异是存在的,相比而言雄性小鼠更为敏感。上述方法存在一定的局限性,耳廓蓝染试验方法利用蓝染原理,可能因染色剂颜色对结果造成一定影响;大鼠皮肤类过敏试验方法虽比较灵敏,但易因受试物自身生物特性影响而出现假阳性;犬试验方法的受试动物为大动物,在实际应用中容易受到极大的限制。总的来说,小鼠是目前类过敏研究中应用最为广泛的动物,其经济便宜,更能全面观察药物所致的不良反应。

1.1.2 I型过敏反应动物模型 主动皮肤过敏试验(ACA)是通过皮肤重复接触受试物,观察皮肤情况判断是否过敏的试验方法,具有一定的主观性,因此,现在大多不采用此种方法。被动皮肤过敏试验(PCA)是I型变态反应性疾病研究最常用的方法之一,1批正常动物被动致敏,随即用相同抗原攻击,背部注入伊文思蓝染料,观察皮肤内层蓝斑直径,炎症反应程度等一系列反应,所选动物通常是豚鼠、BN大鼠、SD大鼠等^[16]。陈怀广等^[17]研究细辛脑注射液在豚鼠PCA试验中的反应,结果发现细辛脑注射液低剂量组(3.72 mg·kg⁻¹)、高剂量组(7.44 mg·kg⁻¹)和阳性(5%鸡蛋清)组豚鼠背部均出现明显蓝斑,表明该注射液可诱发豚鼠皮肤被动过敏阳性反应。井中旭等^[18]建立了改良被动皮肤过敏试验方法,对双黄连粉针和刺五加注射液的过敏性进行了检测,发现其中致敏剂量、致敏次数、激发时间等因素尤为重要。由于豚鼠对弗氏佐剂的毒性不耐受,PCA试验中动物的选择以大鼠为宜并且建议大鼠激发时间为背部皮肤致敏后24 h为最佳时间。主动全身过敏试验(ASA)是药物首次进入体内,刺激机体产生相应的抗体;当同样药物再次进入机体,抗原抗体复合物刺激肥大细胞及嗜碱性粒细胞释放活性介质,引起一系列生理反应,包括有局部水肿、抓鼻、竖毛、休克死亡等。毛宏梅

等^[19]对甘精胰岛素注射液、人脐带间充质干细胞注射液、注射用头孢美唑钠、鱼腥草注射液进行豚鼠主动全身过敏试验,结果未见明显过敏反应。ASA存在的问题是通过对动物进行整体症状观察,以此对受试物诱发过敏的潜力进行判断,然而豚鼠与临床人类对药物的反应症状存在较大差异。易艳等^[20]基于血管通透性增高原理并在ASA试验基础上,通过单独腹腔注射卵清蛋白(OVA)致敏并静脉激发建立一种新型的适用于静脉用药物小鼠IgE依赖的I型过敏反应模型。与常规豚鼠ASA模型相比,试验操作简便、准确、成本低、易推广。

ASA、PCA和ACA主要用于大分子蛋白质类抗原的检测,对小分子化合物(LMWC)而言,试验结果阳性,提示具有致敏潜能,但其结果阴性并不表明LMWC无致敏作用,假阳性率高,说明这些传统的致敏性评价模型并不敏感^[21]。因此,有研究认为豚鼠淋巴结试验(PLNA)是目前LMWC筛选和评价药物超敏反应唯一可靠的实验方法^[22]。其中有2种常用试验方法,小鼠直接豚鼠淋巴结(D-PLNA)和报告抗原豚鼠淋巴结(RA-PLNA)。D-PLNA是将受试物直接注入受试动物足趾部皮下,RA-PLNA将受试物分别与微量的报告抗原三硝基苯基-卵白蛋白(TNP-OVA)或三硝基苯基-聚蔗糖(TNP-Ficoll)混合后一起注射到动物足趾部,6~8 d后观察引流PLN的质量指数、细胞指数、淋巴结组织结构、分泌细胞因子和抗体的变化^[21]。

林琳等^[23]选择D-PLNA和RA-PLNA模型对3种注射液进行了免疫毒性评价,结果发现豚鼠和生脉注射液中小鼠淋巴结出现阳性反应,可引起I型超敏反应。D-PLNA法在应用过程中存在的问题是D-PLNA阳性反应不能区分其炎症反应是免疫机制引起的,还是刺激因素导致;而RA-PLNA可对其机制进行研究,弥补D-PLNA的不足^[24]。

1.2 体外细胞模型

体外细胞模型在一定程度上能够弥补整体动物模型的不足,中药注射剂引起过敏反应时,脱颗粒释放组胺、氨基己糖苷酶等活性物质,引起机体生理和病理变化,常用的细胞模型包括以下4种。

1.2.1 大鼠嗜碱细胞性白血病(RBL-2H3)细胞模型 申茜等^[25]建立RBL-2H3细胞脱颗粒实验,以Compound 48/80(C48/80)为阳性药物,探讨绿原酸致敏性,通过测定 β -氨基己糖苷酶和类胰蛋白酶释放量等,得出绿原酸具有潜在的诱发过敏反应作用。有研究表明,绿原酸为清开灵注射液中的致敏

成分^[26]。RBL-2H3细胞也可用于研究I型过敏反应,采用先致敏再激发的方式,而类过敏反应则是药物单次直接刺激RBL-2H3细胞^[27]。由此可见,RBL-2H3细胞株作为一种评价过敏反应的体外模型,还可用于研究相关过敏机制。

1.2.2 P815细胞模型 小鼠肥大细胞瘤P815细胞能够用于体外传代培养,因具有肥大细胞的特殊性质而逐渐被广泛用于体外过敏反应研究^[28]。刘玲等^[29]收集P815肥大细胞用于体外细胞脱颗粒实验,结果发现,血必净注射液中的绿原酸和咖啡酸均能显著提高细胞模型中组胺水平、细胞脱颗粒率和氨基己糖苷酶释放率,为研究该注射液类过敏性提供了参考。Peng等^[30]以C48/80为阳性药物,比较了RBL-2H3、P815两种细胞系在评价药物类过敏中的敏感性,结果发现在相同刺激条件下,通过测定Annexin V阳性率、过敏介质释放率和脱颗粒率,发现P815细胞脱颗粒研究中灵敏度更高,出现更早。

1.2.3 原代肥大细胞模型 大鼠腹腔肥大细胞是常用的肥大细胞研究模型,朱远洪^[31]等采用大鼠腹腔肥大细胞探究生脉注射液的类过敏性,结果表明在12.5~100 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ 剂量范围可引起肥大细胞脱颗粒。由于肥大细胞比较敏感,分离原代细胞过程繁琐,从腹腔提取的肥大细胞未经纯化,含量很低,且不能体外传代培养,一次无菌提取的细胞仅能应用数天^[32],也不适合较大规模的实验,但它具有直观、可靠、简单易行的优点,可作为验证与深入研究的肥大细胞模型。

1.2.4 人脐静脉内皮细胞(HUVEC)模型 肥大细胞脱颗粒产生的介质,如组胺、胰蛋白酶、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、血管内皮生长因子(VEGF)、人白三烯C₄(LTC₄)和血小板活化因子(PAF)似乎能增加血管的通透性,是过敏性休克机制之一^[33]。有研究采用HUVEC,体外血管内皮细胞单层通透性测试模型结合血管内皮细胞骨架染色,结果发现双黄连注射液可诱导内皮细胞高通透性引发类过敏反应并进一步激活Ras同源基因-Rho相关螺旋卷曲蛋白激酶(RhoA/ROCK)信号通路^[34-35],为进一步研究类过敏机制提供思路。

2 检测方法

在中药注射剂安全性评价中,除了致敏模型的不探究外,检测方法也更加多样化。

2.1 ELISA法

ELISA是过敏反应研究中应用最多的免疫学测定方法。常见的ELISA试验有3种,分为直接

ELISA法、间接ELISA法、双抗体夹心ELISA法。直接ELISA法是用酶标抗体直接检测抗原的方法,它适用于分析抗原的免疫反应。间接ELISA法是先先将抗原结合到ELISA板上,随后分两步进行检测:首先加入检测抗体与抗原特异性结合,随后加入酶标二抗检测并利用底物显色^[36]。间接ELISA法适合测定样品中总抗体的浓度。相较于直接ELISA法,其用到酶标二抗,更灵敏经济。双抗体夹心ELISA法实验原理是通过捕获抗体固定抗原,利用直接ELISA或间接ELISA的方式进行检测的方法。它可用于测定抗原抗体,具有很大灵活性,但对于配对抗体的要求高^[37],适用于对复杂样品进行分析。刘润南等^[38]发现双抗夹心法中半抗原不能很好地与抗体结合,易产生假阴性反应,采用较传统的酶联免疫法研究了绿原酸的致敏性。曾娇丽等^[39]探讨双黄连注射液中黄芩苷的致敏性,采用酶联免疫双抗夹心法,结果呈阳性反应,初步判断黄芩苷是双黄连注射剂的致敏原。尹婕等^[40]采用间接ELISA法探讨双黄连注射液中半抗原成分,结果发现致敏的主要抗原簇与黄芩苷的结构有关。

2.2 高通量筛选分离方法

免疫指纹图谱法是通过对比和分析抗IgE抗体捕获前后注射液及其含药血浆的指纹图谱和质谱,根据特征峰的增减或缺失来确定致敏性成分。文雯等^[41]采用免疫指纹图谱法,以ELISA结合高效液相色谱-质谱联用法(HPLC-MS)筛查双黄连注射液的致敏性成分。相较于传统的致敏原筛查方法,该法不仅限于单成分致敏原筛查,灵敏度高;不需制备抗体(抗原)芯片板,操作简便;采用HPLC-MS指纹图谱分析,在线可确定致敏原的结构。缺点是比对指纹图谱时,容易产生假阳性反应^[42]。

细胞膜色谱法(CMC)是一种新兴的生物亲和色谱技术,采用液相色谱的方法研究药物与固定相上的细胞膜及膜受体的相互作用。Han等^[43]采用大鼠嗜碱性白血病-2H3-细胞膜色谱(RBL-2H3/CMC)、高效液相色谱-电喷雾电离-离子捕获-飞行时间-质谱法(HPLC-ESI-IT-TOF-MS)联用以分析和鉴定脉络宁注射液的潜在过敏成分,结果发现哈帕俄昔是脉络宁注射液中的潜在过敏成分。Bu等^[44]针对传统细胞膜色谱分析方法可靠性差、分析时间长等问题,提出稳定性更高、省时节能的改进生物亲和样品预处理技术,采用大鼠嗜碱性白血病-2H3细胞膜包被的二氧化硅颗粒(RBL-2H3/CMCSPs)结合高效液相色谱-飞行时间质谱联用技术对黄芪

注射液中2种致敏成分进行了筛选和鉴定。

超滤技术是膜分离技术的一种,将溶液中颗粒物质分开,进而纯化、浓缩和筛选溶液中不同组分。Wang等^[45]采用超滤法对热毒宁注射液中的成分进行分离,探讨致敏反应的原因。

这些高通量筛选分离技术与传统的药物筛选方法比较,有自动化、灵敏快速检测、高度特异性等优点。仅仅采用一些体外实验模型探讨中药注射剂的致敏反应,还不够全面,可作为初步筛选手段。随着研究的不断深入,高通量筛选分离技术将在未来的药物研究中发挥不可估量的作用。

2.3 虚拟技术筛选

计算机虚拟筛选技术是在生物结构的基础上发现新配体的过程,从大量的候选化合物中筛选出潜在活性化合物,以缩小人工方法进行配体活性筛选的研究范围^[46]。通常包括4种虚拟筛选技术:分子对接、药效团模型、机器学习和分子相似性方法等,其中分子对接方法在中药注射剂致敏反应方面应用得最为广泛。

2.3.1 分子对接 分子对接是选定一个目标蛋白,利用软件进行虚拟筛选候选化合物,广泛应用于小分子和大分子间的对接。常用的软件有AutoDock, Dock和Sybyl等。庞菲等^[47]使用Auto Dock Tools Vina软件,以人类Mas相关G蛋白偶联受体X2(Mrgpr X2)和Mrgpr X2鼠类基因同源Mrgpr B2为目标蛋白,对香丹注射液中的水溶性酚酸类物质进行分子对接,得出有较高结合($\leq -25.10 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)的组成成分包括丹酚酸A、丹酚酸B、丹酚酸C、迷迭香酸和紫草酸。

2.3.2 其他虚拟筛选技术 机器学习是基于算法通过配体的特征,构建能够随经验而自动改进的计算机程序,用于筛选化合物^[48],常见的算法包括人工神经网络、随机森林和支持向量机等。分子相似性方法依据总体相似的分子应具有相似的生物活性的原理。药效团模型是由已知配体化合物构建,包含了配体和受体靶点结合的三维结构数据,进而筛选化合物的一种方法^[49]。张佳颖^[50]针对含三七皂苷中药注射液,采用各种机器学习建立的预测模型建立药物不良反应预测平台。这些方法高效便捷,极大地减少了使用传统毒性实验方法带来的工作量大、实验周期长、工作效率低以及资源浪费等问题。近年来虚拟筛选技术研究集中于中药治疗的作用机制、物质基础、新药研发、中药毒性研究、探索中药治疗新的疾病等^[51-52],目前还没有发现用

于中药过敏原筛选领域的研究,因此有望在这方面取得一定突破。

3 结语

中药注射剂在临床上发挥不可替代的作用,但其安全性和稳定性问题引起了各界的广泛关注。中药注射剂引起过敏反应的因素很多,包括成分复杂、质量标准不完善、临床使用不合理和患者个体差异等原因,在一定程度上制约了其在临床上的应用和发展。

本文从致敏实验模型和致敏实验方法两个方面综述了目前常用的致敏筛查方法,通过各种动物细胞模型、ELISA、高通量筛选方法,成功确定了多种中药注射剂的致敏原。其中部分研究是针对单一注射液采用单一致敏模型明确致敏成分,不同模型对各种中药注射剂的敏感性不同,指标表现不尽相同,研究具有局限性;人与动物存在差异,单一动物实验并不能准确代表实验结果;由于药物性质复杂,药物浓度等可能会使细胞模型检测结果产生偏差;致敏机制复杂给成分筛查和检测方法选择增加了难度;中药注射剂成分繁多,其中绿原酸^[25]、连翘苷A、B^[53]等已报道具有潜在的致类过敏作用,应当不断完善对中药注射剂单体成分的筛查。

在现阶段中药注射剂的研究中,多技术、多学科联用已经成为大趋势,在传统模型不断优化的同时,结合各种组学技术、高通量方法,更有利于完善致敏检测方法的研究。在具体研究时要注重参考临床剂量,设计多个浓度组,采用多种致敏模型更加全面客观地探究其致敏机制。与此同时,中药材生产家应该对成分进行精准的质量控制,明确组成成分的含量,完善药品说明书的撰写,不断解决不溶性微粒过多过大、辅料残留多等问题。临床使用中药注射剂过程中,应尽量避免不合理用药,关注个体的年龄、性别、体质等差异,严格按照说明书要求储存配置、溶媒选择及输注,如药物输注过快可能会导致严重的不良反应。

近年来陆续在虚拟技术与人工智能方面取得重大突破,在已知成熟致敏模型的基础上借助机器算法和人工智能,从药物成分自身性质出发,筛查潜在致敏成分,并建立监测中药注射剂致敏成分的前瞻模型,是接下来研究的重点,这也是解决中药注射剂安全性问题的重要途径。通过预测,不断规范控制致敏成分含量并确立致敏的评价标准,对已上市的中药注射剂进行安全监测评价,在临床使用中降低不良反应的发生,将为公众健康增加安全保

障,为中药注射剂的现代化、标准化、国际化发展奠定基础,进一步促进中医药事业的蓬勃发展。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Tan L, Li M, Lin Y. Safety concerns of traditional Chinese medicine injections used in Chinese children [J]. Evid Based Compl Alternat Med, 2019, doi: 10.1155/2019/8310368.
- [2] Yang M, Zhu S J, Shen C, et al. Clinical application of Chinese herbal injection for cancer care: Evidence-mapping of the systematic reviews, Meta-analyses, and randomized controlled trials [J]. Front Pharmacol, 2021, doi: 10.3389/fphar.2021.666368.
- [3] Zeng M, Liao Q, Cui Y, et al. The therapeutic efficacy and safety of traditional Chinese medicine injection combined with low-molecular-weight heparin on the acute lower extremity deep venous thrombosis: A protocol for systematic review and network Meta-analysis [J]. Medicine (Baltimore), 2021, 100(50): e28039.
- [4] Zhang Y, Lu P, Qin H, et al. Traditional Chinese medicine combined with pulmonary drug delivery system and idiopathic pulmonary fibrosis: Rationale and therapeutic potential [J]. Biomed Pharmacother, 2021, 133: 111072.
- [5] Huang R, Cai Y, Yang L, et al. Safety of traditional Chinese medicine injection based on spontaneous reporting system from 2014 to 2019 in Hubei Province, China [J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 8875.
- [6] 游鹏程, 王颂. 138例红花黄色素注射液临床使用分析 [J]. 中国药物警戒, 2014, 11(2): 112-113.
You P C, Wang S. Clinical analysis of 138 cases of Carthamus Yellow for Injection [J]. Chin J Pharmacovig, 2014, 11(2): 112-113.
- [7] 徐晨阳, 陈云建. 中药注射剂的不良反应及其成因和防治措施 [J]. 中国民族民间医药, 2018, 27(24): 144-147.
Xu C Y, Chen Y J. The adverse reaction of traditional Chinese medicine injection, its cause and preventive measures [J]. Chin J Ethnomed Ethnopharm, 2018, 27(24): 144-147.
- [8] 李汉成, 朱钊铭, 曾茗, 等. 中药注射剂类过敏动物模型研究进展 [J]. 今日药学, 2023, 33(3): 175-179.
Li H C, Zhu Z M, Zeng M, et al. Advances in animal models of anaphylactoid reaction to traditional Chinese medicine injection [J]. Pharm Today, 2023, 33(3): 175-179.
- [9] 张帆, 王璐, 戚进, 等. 中药注射剂致类过敏反应评价模型研究进展 [J]. 海峡药学, 2019, 31(9): 10-13.

- Zhang F, Wang L, Qi J, et al. Research progress of the evaluation model of pseudoallergic reactions induced by traditional Chinese medicine injection [J]. Strait Pharm J, 2019, 31(9): 10-13.
- [10] 万梅绪, 宋美珍, 李智, 等. 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 [J]. 药物评价研究, 2018, 41(3): 405-410, 428.
- Wang M X, Song M Z, Li Z, et al. Quality control study on Yiqi Fumai Lyophilized Injection for mouse ear blue staining pseudo-allergic reactions [J]. Drug Eval Res, 2018, 41(3): 405-410, 428.
- [11] 李璎峪, 文雯, 刘红宇, 等. 双黄连注射剂及参麦注射液类过敏反应的剂量相关性研究 [J]. 湖南中医药大学学报, 2022, 42(11): 1843-1848.
- Li Y Y, Wen W, Liu H Y, et al. Dose correlation study of anaphylactoid reaction induced by Shuanghuanglian Injection and Shenmai Injection [J]. J Hunan Univ Chin Med, 2022, 42(11): 1843-1848.
- [12] 崔宏玉, 易艳, 李春英, 等. 清开灵注射液类过敏反应的实验研究 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(3): 511-514.
- Cui H Y, Yi Y, Li C Y, et al. Experimental study on pseudoallergic reaction of Qingkailing injection [J]. China J Chin Mater Med, 2014, 39(3): 511-514.
- [13] 康黎静, 谢家骏, 赵琳, 等. 大鼠皮肤类过敏试验评定标准的探讨 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(20): 4044-4051.
- Kang L J, Xie J J, Zhao L, et al. Evaluation criteria for rat skin anaphylactoid test [J]. China J Chin Mater Med, 2015, 40(20): 4044-4051.
- [14] 易艳, 李春英, 赵雍, 等. 清开灵注射液类过敏反应特点及致敏物质初步筛选研究 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(1): 154-159.
- Yi Y, Li C Y, Zhao Y, et al. Pseudoallergic reaction characteristics of Qingkailing Injection and preliminary screening of allergic substances [J]. China J Chin Mater Med, 2018, 43(1): 154-159.
- [15] 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.
- Zhang Y S, Yi Y, Li C Y, et al. Preclinical evaluation of pseudoallergic reactions on Chinese herbal injections: study on animal strain and gender difference [J]. China J Chin Mater Med, 2015, 40(14): 2717-2722.
- [16] 陈文培, 张子扬, 周成浩, 等. 大鼠被动皮肤过敏反应实验条件的优化 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2016, 30(7): 747-753.
- Chen W P, Zhang Z Y, Zhou C H, et al. Optimization of parameters of passive cutaneous anaphylaxis in rats [J]. Chin J Pharmacol Toxicol, 2016, 30(7): 747-753.
- [17] 陈怀广, 杨灿邦, 陈晓蕊, 等. 细辛脑注射液被动皮肤过敏试验及对血清 IgE 的影响 [J]. 广东药科大学学报, 2020, 36(1): 67-70.
- Chen H G, Yang C B, Chen X R, et al. A study on the passive cutaneous anaphylaxis test of asarone injection and its influence on serum IgE [J]. J Guangdong Pharm Univ, 2020, 36(1): 67-70.
- [18] 井中旭, 张妍妍, 冯宇飞. 改良被动皮肤过敏试验方法的建立 [J]. 黑龙江中医药, 2017, 46(1): 78-80.
- Jin Z X, Zhang Y Y, Feng Y F. Establishment of an improved test method for passive skin allergy [J]. Heilongjiang J Tradit Chin Med, 2017, 46(1): 78-80.
- [19] 毛宏梅, 韩超, 崔璐, 等. 4 种不同类型药物的豚鼠全身主动过敏试验研究 [J]. 军事医学, 2016, 40(5): 405-408.
- Mao H M, Han C, Cui L, et al. Active systemic anaphylaxis test of guinea pigs for four different types of drugs [J]. Milit Med Sci, 2016, 40(5): 405-408.
- [20] 易艳, 李春英, 赵雍, 等. 一种新的小鼠过敏试验模型的建立及其在中药注射剂致敏性评价中的应用 [J]. 中国中药杂志, 2022, 47(13): 3581-3588.
- Yi Y, Li C Y, Zhao Y, et al. A novel mouse allergy tested model and its application for traditional Chinese medicine injections's allergy evaluation [J]. China J Chin Mater Med, 2022, 47(13): 3581-3588.
- [21] 刘兆华, 刘兆平, 周庚寅. 腭窝淋巴结试验在药物超敏反应研究中的应用 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2009, 23(1): 70-75.
- Liu Z H, Liu Z P, Zhou G Y. Application of popliteal lymph node assay in the study of drug hypersensitivity [J]. Chin J Pharmacol Toxicol, 2009, 23(1): 70-75.
- [22] Nierkens S, Nieuwenhuijsen L, Thomas M, et al. Evaluation of the use of reporter antigens in an auricular lymph node assay to assess the immunosensitizing potential of drugs [J]. Toxicol Sci, 2004, 79(1): 90-97.
- [23] 林琳, 范潇予, 李恩灿, 等. 小鼠腭窝淋巴结模型评价 3 种中药注射液的潜在免疫毒性 [J]. 癌变·畸变·突变, 2018, 30(4): 275-278, 285.
- Lin L, Fan X Y, Li E C, et al. Potential immunotoxicity of three traditional Chinese medicines using the popliteal lymph node assay in mice [J]. Carcinog Teratog Mutag, 2018, 30(4): 275-278, 285.
- [24] Ravel G, Descotes J. Popliteal lymph node assay: facts and perspectives [J]. J Appl Toxicol, 2005, 25(6): 451-458.
- [25] 申茜, 李珍, 王玉, 等. 绿原酸致 RBL-2H3 细胞脱颗粒反应及机制研究 [J]. 药物评价研究, 2023, 46(2): 305-310.
- Shen Q, Li Z, Wang Y, et al. Degranulation response and mechanism of chlorogenic acid on RBL-2H3 cells [J]. Drug Eval Res, 2023, 46(2): 305-310.
- [26] 廖国平. 清开灵注射液致小鼠 IgE 介导的过敏反应模型建立与绿原酸变应原性研究 [D]. 广州: 南方医科大学,

- 2012.
- Liao G P. The study on modeling a murine model of immunoglobulin-E (IgE) -mediated Qingkailing injection anaphylaxis and the allergenicity of chlorogenic acid [D]. Guangzhou: Southern Medical University, 2012.
- [27] 李黎明, 金若敏, 谢家骏, 等. 致敏RBL-2H3细胞在清开灵、痰热清中药注射剂过敏性评价中的应用 [J]. 中草药, 2015, 46(1): 86-89.
- Li L M, Jin R M, Xie J J, et al. Application of RBL-2H3 cells on allergenicity assessment of Qingkailing and Tanreqing Injections [J]. Chin Tradit Herbal Drugs, 2015, 46(1): 86-89.
- [28] Chan C L. Effects of Taiwan medicinal plants on asthmatic mediators releasing in mouse mastocytoma cell line P815 [D]. Tainan: National Cheng Kung University, 2008.
- [29] 刘玲, 王红, 朱星宇, 等. 血必净注射液及其成分对肥大细胞脱颗粒作用的影响 [J]. 药学与临床研究, 2022, 30(3): 207-211.
- Liu L, Wang H, Zhu X Y, et al. Effects of Xuebijing Injections and their components on degranulation of mast cells [J]. Pharm Clin Res, 2022, 30(3): 207-211.
- [30] Peng B, He R, Xu Q, et al. Comparison of RBL-2H3 and P815 cell lines for establishing *in vitro* model of mast cell degranulation [J]. Chin J Nat Med, 2011, 9(3): 227-231.
- [31] 朱远洪, 王青, 董燕, 等. 生脉注射剂致RBL-2H3细胞与大鼠腹腔肥大细胞脱颗粒研究 [J]. 广州中医药大学学报, 2014, 31(3): 410-413, 417, 496.
- Zhang Y H, Wang Q, Dong Y, et al. Effect of Shengmai Injection on degranulation of RBL-2H3 cells and rat peritoneal mast cells [J]. J Guangzhou Univ Tradit Chin Med, 2014, 31(3): 410-413, 417, 496.
- [32] 李咏梅, 刘炯, 赵源, 等. 大鼠腹腔肥大细胞与RBL-2H3细胞脱颗粒方法的建立及其在中药注射剂安全性评价上的应用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(22): 152-157.
- Li Y M, Liu J, Zhao Y, et al. Studies on degranulation of rat peritoneal mast cells and RBL-2H3 cells caused by traditional Chinese medicine injections [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2011, 17(22): 152-157.
- [33] Nguyen S, Rupprecht C P, Haque A, et al. Mechanisms governing anaphylaxis: Inflammatory cells, mediators, endothelial gap junctions and beyond [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(15): 7785.
- [34] Han J, Zhao Y, Zhang Y, et al. RhoA/ROCK signaling pathway mediates Shuanghuanglian Injection-induced pseudo-allergic reactions [J]. Front Pharmacol, 2018, 9: 87.
- [35] Han J, Yi Y, Li C, et al. Involvement of histamine and RhoA/ROCK in penicillin immediate hypersensitivity reactions [J]. Sci Rep, 2016, 6: 33192.
- [36] 尚再卓, 于瑞明, 张莉萍, 等. 猪 δ 冠状病毒抗体间接ELISA检测方法的建立 [J]. 中国兽医学报, 2022, 42(12): 2339-2346.
- Shang Z Z, Yu R M, Zhang L P, et al. Establishment of indirect ELISA for detection of porcine deltacoronavirus antibody [J]. Chin J Veterin Sci, 2022, 42(12): 2339-2346.
- [37] 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): 1439-1446.
- 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 Pharm Anal, 2013, 33(8): 1439-1446.
- [38] 刘润南, 包小燕, 曾姣丽, 等. 免疫指纹图谱法研究双黄连注射剂中绿原酸的致敏性 [J]. 中南药学, 2019, 17(3): 352-355.
- Liu R N, Bao X Y, Zeng J L, et al. Sensitivity of chlorogenic acid in Shuanghuanglian Injection by immune fingerprinting [J]. Central South Pharm, 2019, 17(3): 352-355.
- [39] 曾姣丽, 贺福元, 唐昱, 等. 双黄连注射剂中黄芩苷致敏原性的研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(1): 102-106.
- Zeng J L, He F Y, Tang Y, et al. Study of Allergenicity of Baicalin in Shuanghuanglian Injection [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2012, 18(1): 102-106.
- [40] 尹婕, 尹利辉, 胡昌勤, 等. 双黄连注射液中半抗原成分酶联免疫检测方法的建立 [J]. 中成药, 2013, 35(12): 2678-2683.
- Yin J, Yin L H, Hu C Q, et al. Enzyme-linked immunosorbent assay of hapten in Shuanghuanglian Injection [J]. Chin Tradit Pat Med, 2013, 35(12): 2678-2683.
- [41] 文雯, 贺福元, 刘文龙, 等. 基于免疫指纹图谱法筛查双黄连注射剂的致敏成分 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(8): 1588-1595.
- Wen W, He F Y, Liu W L, et al. Screening of Shuanghuanglian Injection allergenic ingredients based on immune fingerprint [J]. China J Chin Mater Med, 2019, 44(8): 1588-1595.
- [42] 贺福元, 邓凯文, 曾姣丽, 等. 中药注射剂致敏成分群筛查方法研究的现状与免疫组化法 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(19): 2836-2841.
- He F Y, Deng K W, Zeng J L, et al. Current state of studies on screening method for sensitogens in injections for traditional Chinese medicine and synthetic immunity method [J]. China J Chin Mater Med, 2012, 37

- (19): 2836-2841.
- [43] Han S, Lv Y, Xue W, et al. Screening anaphylactic components of Mailuoning Injection by using rat basophilic leukemia-2H3 cell membrane chromatography coupled with HPLC-ESI-TOF-MS [J]. J Sep Sci, 2016, 39(3): 466-472.
- [44] Bu Y, Hu Q, Xu K, et al. Improved cell membrane bioaffinity sample pretreatment technique with enhanced stability for screening of potential allergenic components from traditional Chinese medicine injections [J]. J Mater Chem B, 2018, 6(4): 624-633.
- [45] Wang F, Li C Y, Zheng Y F, et al. Identification of the allergenic ingredients in Reduning Injection by ultrafiltration and high-performance liquid chromatography [J]. J Immunol Res, 2016, 2016: 4895672.
- [46] 冯迪, 刘媛, 孙影, 等. 基于计算机虚拟筛选技术寻找NDM-1抑制剂 [J]. 国外医药: 抗生素分册, 2018, 39(2): 111-115.
- Feng D, Liu Y, Sun Y, Zheng H, et al. Search for NDM-1 inhibitors based on computer virtual screening techniques [J]. World Notes Antibiot, 2018, 39(2): 111-115.
- [47] 庞菲, 王弯弯, 郝瑞瑞, 等. 香丹注射液中致类过敏反应成分筛选及机制初探 [J]. 中草药, 2022, 53(20): 6500-6508.
- Pang F, Wang W W, Hao R R, et al. Screening and preliminary mechanism of inducer of anaphylactic reaction in Xiangdan Injection [J]. Chin Tradit Herbal Drugs, 2022, 53(20): 6500-6508.
- [48] Rebala G, Ravi A, Churiwala S. An Introduction to Machine Learning [M]. Cham: Springer Nature Switzerland AG, 2019: 1-3.
- [49] 刘景陶. 基于药效团模型的药物设计与筛选 [J]. 科技创新与应用, 2020(34): 69-71.
- Liu J T. Drug design and screening based on pharmacophore model [J]. Technol Innov Appl, 2020(34): 69-71.
- [50] 张佳颖. 以含三七皂苷成分中药注射液为例建立ADR前置预测系统 [D]. 成都: 电子科技大学, 2020.
- Zhang J Y. Establishment of ADR prediction system for traditional Chinese medicine injection containing panax notoginseng saponins [D]. Chengdu: University of Electronic Science and Technology of China, 2020.
- [51] 高宇, 王凤雪, 刘海波. 虚拟筛选技术在天然产物新药研发中的应用 [J]. 国际药学研究杂志, 2020, 47(8): 602-608.
- Gao Y, Wang F X, Liu H B. Application of in silico screening technology in the medical research of natural products [J]. J Int Pharm Res, 2020, 47(8): 602-608.
- [52] 章新友, 张亚明, 刘梦玲, 等. 虚拟筛选技术在中药研究中的应用 [J]. 中国新药杂志, 2022, 31(17): 1676-1683.
- Zhang X Y, Zhang Y M, Liu M L, et al. Application of virtual screening technology in the research of traditional Chinese medicine [J]. Chin J New Drugs, 2022, 31(17): 1676-1683.
- [53] Han J, Zhang Y, Pan C, et al. Forsythoside A and forsythoside B contribute to Shuanghuanglian Injection-induced pseudoallergic reactions through the RhoA/ROCK signaling pathway [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(24): 6266.

[责任编辑 李红珠]