

吡罗昔康凝胶中引发类过敏反应的组分研究

李 婕¹, 庾莉菊¹, 吴彦霖¹, 王文林², 陈 华^{1*}

1. 中国食品药品检定研究院 国家药品监督管理局化学药品质量研究与评价重点实验室, 北京 102629

2. 陕西省食品药品检验研究院, 陕西 西安 710076

摘要: **目的** 建立细胞膜色谱法筛选吡罗昔康凝胶中的致敏组分, 并进行致敏效应评价。**方法** 采用类过敏反应受体 MRGPRX2 高表达细胞膜色谱模型对吡罗昔康凝胶的主成分和辅料进行致敏组分筛选; 体外培养人肥大细胞 LAD2, 利用 β -氨基己糖苷酶 (β -Hex) 及炎症因子释放实验验证所筛出组分的致敏效应; 体外培养 MRGPRX2 高表达大鼠嗜碱性粒细胞性白血病细胞 (RBL-MRGPRX2), 验证吡罗昔康和月桂氮草酮 (25、50、100、200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 对 β -Hex 释放率的影响; 钙离子成像实验验证吡罗昔康和月桂氮草酮 (200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 对 MRGPRX2-HEK293 细胞内钙离子的影响; 检测吡罗昔康 (5 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)、月桂氮草酮 (2.5 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 对小鼠体温的影响。**结果** 细胞膜色谱法从吡罗昔康凝胶中筛选出的致敏组分为吡罗昔康、月桂氮草酮、三乙醇胺和羟苯乙酯; 与对照组比较, 吡罗昔康和月桂氮草酮可显著促进 β -Hex 及肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 的释放 ($P < 0.05$ 、0.01、0.001), 其中月桂氮草酮作用呈浓度相关性, 致敏效应最强; 小鼠体温测定结果表明, 与对照组比较, 吡罗昔康和月桂氮草酮均可显著引发小鼠体温下降 ($P < 0.05$ 、0.01、0.001), 且月桂氮草酮效应更强, 与细胞水平结果一致。**结论** 吡罗昔康凝胶中的吡罗昔康和月桂氮草酮具有引发类过敏反应的风险, 其中月桂氮草酮的致敏效应更强。

关键词: 吡罗昔康凝胶; 类过敏; 细胞膜色谱; 月桂氮草酮; β -氨基己糖苷酶

中图分类号: R965 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2025)11-3143-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.11.009

Study on components of piroxicam gel causing anaphylactoid reaction

LI Jie¹, YU Liju¹, WU Yanlin¹, WANG Wenlin², CHEN Hua¹

1. Key Laboratory of Chemical Drug Quality Research and Evaluation, National Medical Products Administration, National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 102629, China

2. Shaanxi Institute for Food and Drug Control, Xi'an 710076, China

Abstract: **Objective** Cell membrane chromatography was established to screen the sensitizing components in piroxicam gel and evaluate their sensitizing effects. **Methods** A cell membrane chromatography model with high expression of the mast cell receptor MRGPRX2 was used to screen the main components and excipients of piroxicam gel for sensitizing components. Human mast cell line LAD2 was cultured *in vitro*, and β -hexosaminidase (β -Hex) and inflammatory factor release experiments were used to verify the sensitizing effects of the screened components. RBL-MRGPRX2 cells with high expression of MRGPRX2 were cultured *in vitro* to verify the effects of piroxicam and laurindione (25, 50, 100, 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) on the release rate of β -Hex. Calcium ion imaging experiments were used to examine the effects of piroxicam and laurindione (200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) on intracellular calcium ions in MRGPRX2-HEK293 cells. The effects of piroxicam (5 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) and laurindione (2.5 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) on the body temperature of mice were detected. **Results** The sensitizing components screened from piroxicam gel by cell membrane chromatography were piroxicam, laurindione, triethanolamine and ethylparaben. Compared with the control group, piroxicam and laurindione could significantly promote the release of β -Hex and tumor necrosis factor (TNF)- α ($P < 0.05$, 0.01, 0.001), and the sensitizing effect of laurindione was concentration-dependent and the strongest. The results of body temperature measurement in mice showed that compared with the control group, piroxicam and laurindione could significantly cause a decrease in body temperature in mice ($P < 0.05$, 0.01, 0.001), and the effect of laurindione was stronger, which was consistent with the results at the cellular level. **Conclusion** Piroxicam and laurindione in piroxicam gel have the risk

收稿日期: 2025-04-03

基金项目: 陕西省药品监管科学研究项目 (2D/CMC 分析方法在中药注射液质量控制中的应用)

作者简介: 李 婕, 研究方向为药物分析。E-mail: lijie@nifdc.org.cn

*通信作者: 陈 华, 研究方向为药物分析。E-mail: chenhu@nifdc.org.cn

of causing anaphylactoid reactions, and the sensitizing effect of laurindione is stronger.

Key words: piroxicam gel; anaphylactoid reaction; cell membrane chromatography; laurocapram; β -hexosaminidase

吡罗昔康是一种非甾体抗炎镇痛药,口服会引起胃肠道不良反应,而经皮给药制剂——吡罗昔康凝胶可消除对胃肠道刺激,临床上广泛用于缓解局部疼痛^[1-2]。吡罗昔康凝胶国内在产企业有黑龙江天辰药业有限公司(天辰)和湖北广济药业股份有限公司(广济),原料药均来自河南开封制药(集团)医药科技有限公司(河南开封制药),凝胶基质均为卡波姆,pH 值调节剂均为三乙醇胺,润滑剂均为丙二醇,但抑菌剂和促渗剂不同,其中天辰促渗剂采用二甲基亚砷,抑菌剂采用硫代硫酸钠和羟苯乙酯,广济促渗剂采用月桂氮草酮,抑菌剂采用乙醇和亚硫酸钠。不良反应中心数据表明,吡罗昔康凝胶的少部分患者使用过程中有皮肤轻微发红、发痒或皮疹等典型过敏症状,是典型的过敏症状,但是造成这种过敏反应的原因尚不明确,且并无相关文献报道。尽管吡罗昔康凝胶在临床应用广泛,但对于其引发过敏反应的具体组分及作用机制尚未明确,缺乏深入的分子机制探究。

研究证实,肥大细胞上的 G 蛋白偶联受体 MRGPRX2 是介导多种小分子药物引发过敏反应的关键靶点^[3-4],不同于免疫球蛋白 E (IgE) 介导的 I 型过敏反应,这种反应与给药剂量和速度具有直接相关性,首次接触致敏物即会出现过敏症状,被称为类过敏反应^[5-6]。细胞膜色谱技术(CMC)是一种基于“配体-受体”特异性相互作用原理,将体内药物与膜受体的作用过程转化为体外色谱过程的分析方法^[7]。该技术在研究小分子药物致敏机制方面展现出独特优势,已成功应用于多种药物的致敏组分筛选研究中^[8-10]。

通过建立 MRGPRX2 受体高表达色谱模型,探讨各组分是否通过 MRGPRX2 引发类过敏反应,明确可能的过敏机制,可为药物安全性评价奠定实验基础。基于此,本研究收集了国内吡罗昔康凝胶 2 个生产厂家的全部原辅料,利用 MRGPRX2 高表达细胞膜色谱模型,结合多种细胞实验和动物实验,系统地筛选吡罗昔康凝胶中的致敏组分,并深入评价其致敏效应,为吡罗昔康凝胶的临床合理应用和质量改进提供科学依据。

1 材料

1.1 药物与主要试剂

吡罗昔康原料药[河南开封制药(集团)医药科

技有限公司,批号 20220507,质量分数 99.7%];辅料:卡波姆均聚物(批号 20230802)、丙二醇(批号 YF01231204)、羟苯乙酯(批号 20230106)、二甲基亚砷(批号 20230306)、硫代硫酸钠(批号 TF07221101)、三乙醇胺(批号 20230901),均购自黑龙江天辰药业有限公司;辅料:卡波姆(批号 20230801)、丙二醇(批号 20240101)、亚硫酸钠(批号 20211101)、月桂氮草酮(批号 20220501)、乙醇(批号 20230405)、三乙醇胺(批号 20220401),均购自湖北广济药业股份有限公司;氨基硅胶(型号 ZEX-II, 200 nm, 5 μ m, 青岛美高集团有限公司);DMEM 培养基、胎牛血清(美国 HyClone 公司);100 $\times$ 双抗(西安赫特生物技术有限公司);胰蛋白酶、磷酸盐缓冲液(PBS),均购自罗氏诊断产品(上海)有限公司;伊文思蓝(上海阿拉丁生化科技股份有限公司);F-127、Fluo-3AM(美国 Invitrogen 公司);肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素(IL)-8 ELISA 试剂盒(北京义翘神州科技有限公司);R-ZINC-3573(陶术生物科技有限公司);C48/80(批号 0000375980,德国默克公司);Triton X-100(科昊生物工程公司); β -氨基己糖(Sigma-Aldrich 公司);其他试剂均为分析纯。

1.2 主要仪器

2D/CMC-中药注射液类过敏分析仪[悟空科学仪器(上海)有限公司];SHZ-D 循环水式真空泵(巩义市予华仪器有限责任公司);RPL-ZD10 装柱机、细胞膜色谱柱芯和柱套(大连日普利科技有限公司);FlexStation3 多功能微孔酶标仪(美谷分子仪器有限公司);MCO-15AC CO₂ 细胞培养箱(日本三洋公司)。

1.3 实验动物与细胞

SPF 级体质量 18~22 g 的雄性 C57BL/6J 小鼠,购自西安交通大学实验动物中心,实验动物生产许可证号 SCXX(陕)2023-002;动物实验经西安交通大学医学部生物医学伦理委员会审批,伦理审批编号 XJTUAE2024-2415。

MRGPRX2 高表达 HEK293 细胞(MRGPRX2-HEK293)、MRGPRX2 高表达大鼠嗜碱性粒细胞性白血病细胞 RBL(RBL-MRGPRX2)购自吉满生物科技(上海)有限公司;人肥大细胞 LAD2(美国

国立卫生研究院)。

2 方法

2.1 MRGPRX2-HEK293/CMC 模型的建立与样品分析

2.1.1 MRGPRX2-HEK293/CMC 模型的建立 王程等^[1]采用 His 融合蛋白技术-CMC 法,成功高效地筛选出 MRGX2 拮抗剂,可作为筛选活性前体的有效分析工具。本研究参考该研究方法,通过 MRGPRX2-His-tag-HEK293 细胞膜、固定相、色谱柱的制备,逐步构建了 MRGPRX2-HEK293/CMC 模型。

2.1.2 样品分析 将吡罗昔康原料药及辅料、R-ZINC-3573 (MRGPRX2 高选择性激动剂,作为阳性药验证模型成功)用甲醇/超纯水溶解,配制成药 1.0 mg·mL⁻¹的待测样品,0.22 μm 微孔滤膜滤过,注入 2D/CMC-中药注射液类过敏分析仪中进行潜在致敏组分筛选。

色谱条件:MRGPRX2-His-tag-HEK293 细胞膜色谱柱,水为流动相,体积流量为 0.2 mL·min⁻¹,柱温为 37 °C, DAD 检测器,进样量为 10 μL。

2.2 β-氨基己糖苷酶 (β-Hex) 释放实验

将 LAD2 细胞用培养基稀释成 1 × 10⁶ 个·mL⁻¹ 的细胞悬液,每孔 100 μL 接种至 96 孔板。将 96 孔板 2 000 r·min⁻¹ 离心 5 min,弃上清,每孔加入 100 μL 受试物(吡罗昔康,天辰-三乙醇胺、羟苯乙酯、二甲基亚砜、丙二醇、硫代硫酸钠、卡波姆均聚物,广济-三乙醇胺、月桂氮草酮、丙二醇、亚硫酸钠、卡波姆,浓度均为 200 μmol·L⁻¹)的 TM 缓冲溶液,C48/80 (阳性对照)组加入终质量浓度为 30 μg·mL⁻¹ C48/80 的 100 μL TM 缓冲溶液,对照组加入相同体积的 TM 缓冲溶液,于 37 °C 的 5% CO₂ 恒温培养箱中孵育 30 min。将 96 孔板 2 000 r·min⁻¹ 离心 5 min,分别吸取给药组、C48/80 组和对照组上清 50 μL 至新的 96 孔板,对照组细胞吸弃剩余上清,加入 0.1% Triton X-100 溶液 100 μL,吹打 10 次,裂解细胞,在 4 °C 下 2 000 r·min⁻¹ 离心 5 min,得到裂解组上清。上清中每孔加入 1 mmol·L⁻¹ 的 β-氨基己糖 50 μL,置于 37 °C 培养箱内孵育 90 min,孵育完成后,每孔加入 150 μL 0.1 μmol·L⁻¹ Na₂CO₃/NaHCO₃ (pH 值为 10) 终止液终止反应。将 96 孔板置于室温摇床上摇晃混匀 2 min,在酶标仪 405 nm 波长下测定吸光度 (A) 值,计算 β-Hex 释放率。

$$\beta\text{-Hex 释放率} = A_{\text{给药}} / (A_{\text{裂解}} + A_{\text{对照}})$$

进一步利用构建的 MRGPRX2 受体高表达细胞 RBL-MRGPRX2,检验吡罗昔康和月桂氮草酮 (25、50、100、200 μmol·L⁻¹) 对 β-Hex 释放率的影响,方法同上。

采用 LAD2 细胞检测月桂氮草酮 (6.25、12.50、25.00、50.00、100.00、200.00、400.00、600.00、800.00 μmol·L⁻¹) 的半数有效浓度 (EC₅₀),方法同上。

2.3 钙离子成像实验

MRGPRX2-HEK293 细胞以每孔 1 × 10⁴ 个接入 96 孔板中。次日,使用提前预热过的 2-氯-1,3-二甲基咪唑鎓四氟硼酸盐 (CIB) 溶液将待测药物稀释到所需浓度备用;配制含有 5 μmol·L⁻¹ Fluo-3 及 0.02% F-127 的 CIB 溶液作为钙离子染液。吸弃 96 孔板内培养基,CIB 溶液清洗 1 次,每孔中加入 100 μL 配制好的染液,于 37 °C 培养箱内孵育 45 min。结束后,吸弃孔内染液,CIB 溶液清洗 2 次,每孔中加入 100 μL CIB 溶液静置 5 min。将 96 孔板置于荧光显微镜蓝光条件下,依次吸去孔内 CIB 溶液后迅速加入 100 μL 吡罗昔康 (200 μmol·L⁻¹)、月桂氮草酮 (200 μmol·L⁻¹)、C48/80 (30 μg·mL⁻¹) 溶液,拍照,每秒拍摄 1 张,拍照时间为 120 s。

2.4 炎症因子释放量的测定

将 LAD2 细胞按 1 × 10⁵ 个·孔⁻¹ 均匀接种于 96 孔板 (每孔 100 μL) 中,于 37 °C 下培养过夜;以 1 500 r·min⁻¹ 离心 5 min 后吸弃上清液,将细胞分为对照组、C48/80 (阳性对照,30 μg·mL⁻¹) 组、月桂氮草酮组和吡罗昔康组 (50、100、200 μmol·L⁻¹),每组设 3 个复孔,对照组加入 100 μL 空白培养基,给药组加入 100 μL 含药培养基。于 37 °C 下孵育 6 h 后,以 1 500 r·min⁻¹ 离心 5 min,取上清液,严格按照相应试剂说明书操作,采用 ELISA 法以酶标仪检测各组细胞上清液中炎症因子 TNF-α、IL-8 的含量。

2.5 小鼠体温测定实验

小鼠随机分为对照组、C48/80 (1 mg·kg⁻¹, 阳性对照) 组、吡罗昔康 (5 mg·kg⁻¹) 组、月桂氮草酮 (2.5 mg·kg⁻¹) 组,每组 5 只,吡罗昔康和月桂氮草酮用量约为临床等效用量的 25 倍。在给药前,将小鼠固定,检测小鼠肛温作为初始体温。尾 iv 200 μL 相应药物后,每 5 分钟测量 1 次体温,并记录小鼠体温变化。

2.6 统计学分析

实验数据均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用 SPSS 18.0 软件进行统计, 采用单因素方差分析 (ANOVA) 和 Dunnett 多重比较检验。

3 结果

3.1 MRGPRX2-His-tag-HEK293 筛选分析结果

药物发挥效应的第一步是与特异性受体结合。CMC 技术基于配体-受体相互作用原理, 可筛选出与特定受体相互作用的药物。MRGPRX2 受体是介导药物类过敏反应的关键受体。本研究首先应用 MRGPRX2 受体高表达 CMC 模型对吡罗昔康及辅料中的潜在致敏组分进行筛选。如表 1 和图 1 所示, 吡罗昔康、三乙醇胺、羟苯乙酯和月桂氮草酮在 MRGPRX2-HEK293/CMC 柱上有较好的保留, 即具有作用于 MRGPRX2 引发类过敏反应的潜在风险。

表 1 吡罗昔康及辅料在 MRGPRX2-HEK293/CMC 柱上的保留情况

厂家	组分	t/min
天辰	二甲亚砜	—
	丙二醇	—
	三乙醇胺	1.4
	硫代硫酸钠	—
	卡波姆均聚物	—
	羟苯乙酯	1.7
	月桂氮草酮	2.7
广济	丙二醇	—
	三乙醇胺	1.4
	亚硫酸钠	—
	卡波姆	—
	乙醇	—
	吡罗昔康	5.5、13.1
	吡罗昔康	5.5、13.1

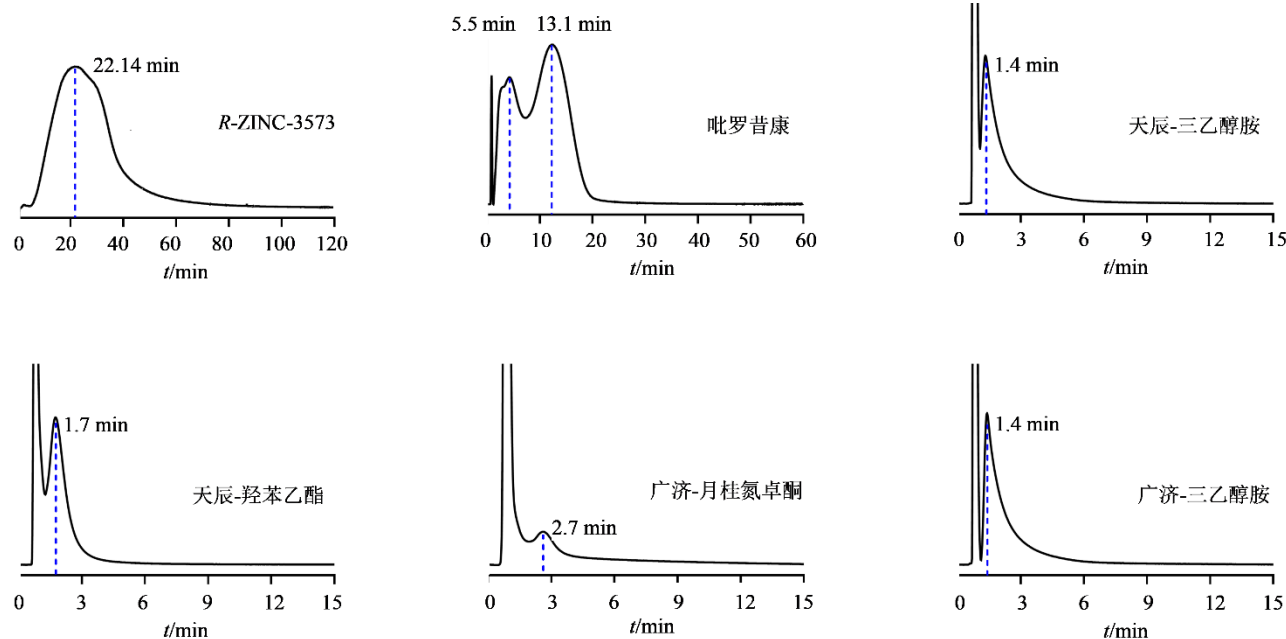


图 1 吡罗昔康及辅料在 MRGPRX2-HEK293/CMC 柱上的色谱图

Fig. 1 Chromatograms of piroxicam and excipients on MRGPRX2-HEK293/CMC column

3.2 潜在致敏组分的细胞水平活性评价

3.2.1 对 LAD2 细胞 β -Hex 释放的影响 LAD2 细胞为人源肥大细胞, 该细胞上 MRGPRX2 高表达, 常作为类过敏组分评价的工具细胞。当肥大细胞受到类过敏物质刺激后, 释放 β -Hex 到细胞外, 其释放量与过敏反应程度呈正相关关系。 β -氨基己糖为 β -Hex 的底物, 可被 β -Hex 水解, 通过检测此水解反应的反应程度来检测 β -Hex 的程度, 进而评价肥大细胞被激活的程度。如图 2 所示, 与对照组比较, 在 CMC 柱上有保留的 4 种化合物中, 吡罗昔康、

月桂氮草酮均可促进 LAD2 细胞释放 β -Hex ($P < 0.05$ 、 0.001), 且月桂氮草酮作用最强; 三乙醇胺和羟苯乙酯则在 $200 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度下对 LAD2 细胞的 β -Hex 释放无促进作用; 此外, 在 CMC 柱上无保留的 7 种化合物也不促进 β -Hex 释放。结果提示, 吡罗昔康和月桂氮草酮可能通过 MRGPRX2 激活肥大细胞。

3.2.2 对 MRGPRX2-HEK293 细胞内钙离子的影响 某些致敏组分作用于 MRGPRX2 受体后, 可激活钙离子相关通路, 导致细胞内钙离子浓度增高, 细胞

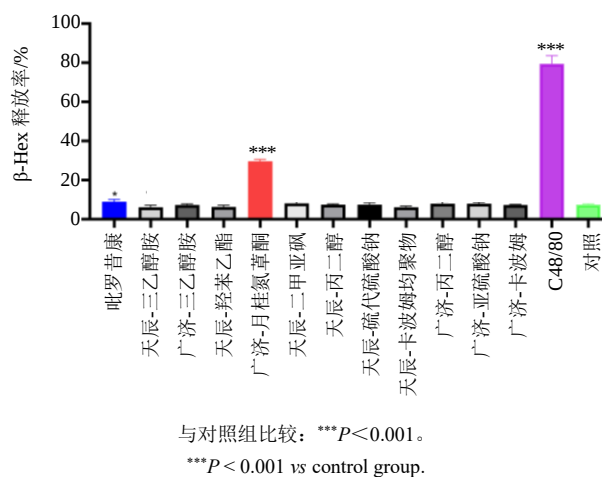


图 2 吡罗昔康及辅料对 LAD2 细胞 β -Hex 释放的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 2 Influence of piroxicam and excipients on β -Hex release in LAD2 cells ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

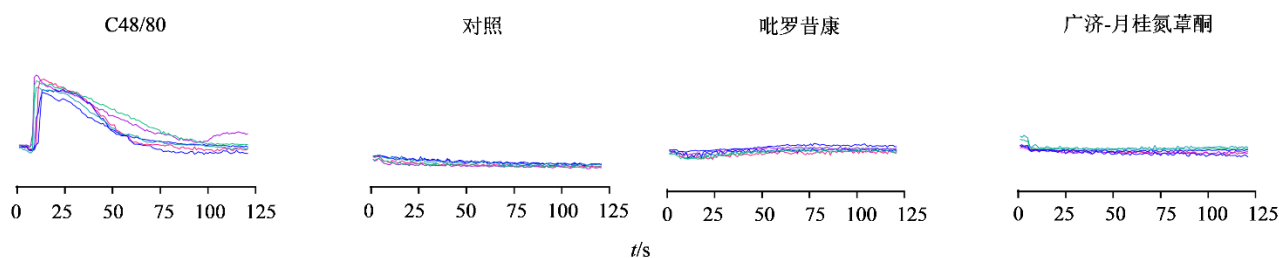


图 3 吡罗昔康及辅料对 MRGPRX2-HEK293 细胞内钙离子的影响

Fig. 3 Influence of piroxicam and excipients on intracellular calcium in MRGPRX2-HEK293 cells

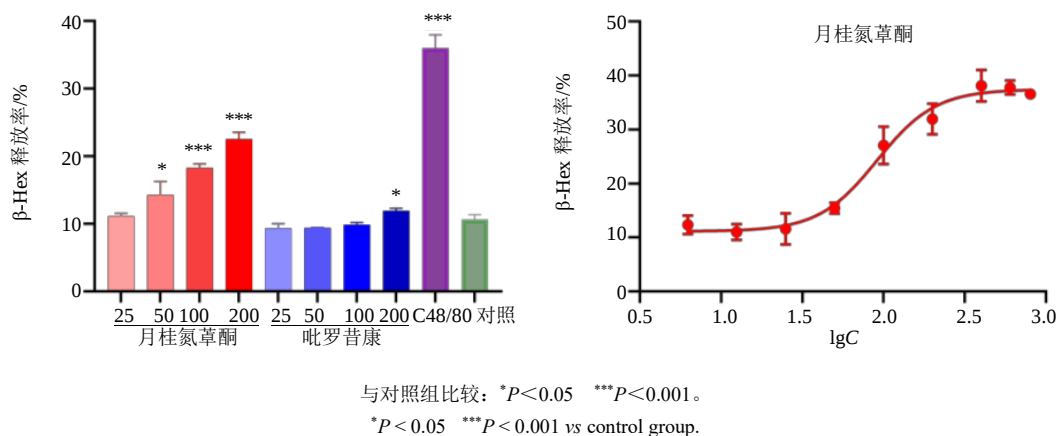


图 4 吡罗昔康、月桂氮草酮对 β -Hex 释放的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 4 Influence of piroxicam and laurocapram on β -Hex release ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

值, 为 $91.29 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

3.2.4 对 LAD2 细胞炎症因子 $\text{TNF-}\alpha$ 和 IL-8 释放的影响 肥大细胞被致敏组分激活后, 引发肥大细胞合成并释放化学因子, 包括 $\text{TNF-}\alpha$ 、IL-8 等, 其释放量与过敏反应程度正相关。如图 5 所示, 吡罗昔康和月桂氮草酮在 50、100、200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 3 个给药浓度下均

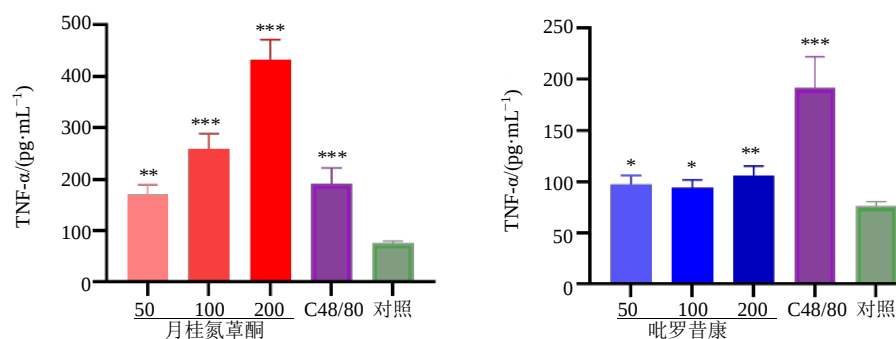
内增多的钙离子会络合钙离子探针使细胞表现为荧光强度增加, 即细胞荧光强度增加作为判断细胞浓度增加进而判断细胞激活的一个标准。图 3 所示, 吡罗昔康和月桂氮草酮均无法引起 MRGPRX2-HEK293 细胞的胞内钙离子浓度升高, 即不通过该通路引发过敏反应。

3.2.3 对 RBL-MRGPRX2 细胞 β -Hex 释放的影响及月桂氮草酮 EC_{50} 进一步利用 RBL-MRGPRX2 细胞对吡罗昔康和月桂氮草酮的活性进行验证, 如图 4 所示, 与对照组比较, 月桂氮草酮可浓度相关地促进 RBL-MRGPRX2 细胞释放 β -Hex, 50、100、200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组差异显著 ($P < 0.05$ 、0.001), 而吡罗昔康仅在 200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度下促进 RBL-MRGPRX2 细胞释放 β -Hex ($P < 0.001$), 与“3.2.1”项的初步筛选结果基本一致; 同时还测定了活性最强的月桂氮草酮促进 LAD2 细胞释放 β -Hex 的 EC_{50}

可促进 LAD2 细胞释放 $\text{TNF-}\alpha$ ($P < 0.05$ 、0.01、0.001), 且月桂氮草酮作用更强, 与 β -Hex 释放的结果一致; 同时, 测定了月桂氮草酮对 IL-8 释放的影响, 如图 6 所示, 月桂氮草酮并不促进 LAD2 细胞释放 IL-8。

3.3 小鼠体温实验

当小鼠发生类过敏反应时, 其外周血管舒张,

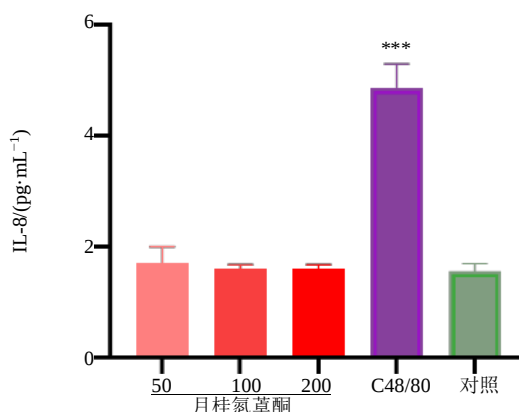


与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ 。

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group.

图 5 吡罗昔康、月桂氮草酮对 LAD2 细胞 TNF- α 释放的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 5 Influence of piroxicam and laurocapram on TNF- α release in LAD2 cells ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)



与对照组比较: *** $P < 0.001$ 。

*** $P < 0.001$ vs control group.

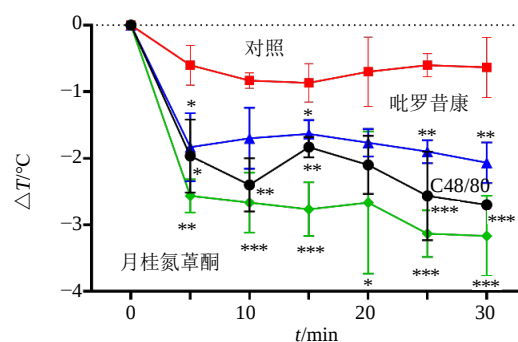
图 6 月桂氮草酮对 LAD2 细胞 IL-8 释放的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 6 Influence of laurocapram on IL-8 release in LAD2 cells ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

引起体温降低,小鼠体温变化可以作为一个评价小鼠发生类过敏反应的重要指标。如图 7 所示,与对照组比较,吡罗昔康和月桂氮草酮均可引发小鼠体温显著下降 ($P < 0.05$, 0.01 , 0.001),且月桂氮草酮效应更强,与细胞水平结果一致,即月桂氮草酮具有更强的致敏风险。

4 讨论

吡罗昔康凝胶在临床使用过程中过敏症状时有发生,但过敏反应的物质基础和作用机制尚不明确。MRGPRX2 受体是肥大细胞介导类过敏反应的关键受体,与过敏性鼻炎^[12]、特应性皮炎^[13-14]、和慢性荨麻疹^[15]等各种过敏性疾病的发生密切相关。促分泌素、P 物质等内源性多肽,阿片类、四氢异



与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ 。

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group.

图 7 吡罗昔康、月桂氮草酮对小鼠体温的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Fig. 7 Influence of piroxicam and laurocapram on body temperature of mice ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

喹啉类、喹诺酮类、多肽类等药物均可直接激活 MRGX2 引发类过敏反应^[16-17]。研究显示,MRGPRX2 的配体种类不同,会激活不同的信号通路:可以激活 G 蛋白相关通路,包括 p38 信号通路、细胞外调节蛋白激酶 (ERK1/2) 信号通路以及 c-Jun 氨基末端激酶 (JNK) 信号通路,引起胞内钙离子迅速升高,释放组胺、 β -氨基糖苷酶及炎症因子等,引起类过敏反应^[18];或与 MRGPRX2 结合后通过 β -arrestin 蛋白引起内化与脱颗粒,促进过敏反应发生^[19]。本研究利用高表达细胞膜色谱技术和细胞水平活性评价,筛选出吡罗昔康凝胶中吡罗昔康、月桂氮草酮、三乙醇胺和羟苯乙酯为潜在致敏组分。研究发现吡罗昔康、羟苯乙酯、三乙醇胺和月桂氮草酮 4 种组分均在 MRGPRX2/CMC 模型上

有保留；细胞和动物水平实验表明吡罗昔康和月桂氮草酮可促进肥大细胞的 β -Hex 释放及炎症因子释放，引起小鼠体温下降，具有引发类过敏反应的风险，其中辅料月桂氮草酮的致敏效应最强；其中，吡罗昔康和月桂氮草酮均不促进细胞内钙离子浓度增高，提示其可能通过 β -arrestin 蛋白途径引发类过敏反应。

月桂氮草酮是国内应用最广泛的透皮吸收促进剂之一，与丙二醇和乙醇联用能大大提高月桂氮草酮对药物主成分的促透作用^[20-21]。本研究首次对月桂氮草酮的过敏机制进行研究，发现其具有典型的致类过敏作用，且存在剂量相关性，为透皮制剂开发及临床安全性评价提供实验基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 高建青, 梁文权, 何玲君, 等. 吡罗昔康凝胶离子导入经皮给药研究 [J]. 中国药学杂志, 2000, 35(6): 26-28.
Gao J Q, Liang W Q, He L J, et al. Study on transdermal iontophoresis of piroxicam gel [J]. Chin Pharm J, 2000, 35(6): 26-28.
- [2] 徐胜前, 徐建华, 王芬, 等. 吡罗昔康凝胶治疗骨关节炎 [J]. 中国医院药学杂志, 2001, 21(6): 29-31.
Xu S Q, Xu J H, Wang F, et al. Treatment of osteoarthritis with piroxicam gel [J]. Chin J Hosp Pharm, 2001, 21(6): 29-31.
- [3] Al Hamwi G, Riedel Y K, Clemens S, et al. MAS-related G protein-coupled receptors X (MRGPRX): Orphan GPCRs with potential as targets for future drugs [J]. Pharmacol Ther, 2022, 238: 108259.
- [4] McNeil B D. MRGPRX2 and adverse drug reactions [J]. Front Immunol, 2021, 12: 676354.
- [5] 杨奇涛, 吴畅, 林新丽, 等. 药物类过敏反应及其机制的研究进展 [J]. 药学与临床研究, 2023, 31(2): 159-163.
Yang Q T, Wu C, Lin X L, et al. Research progress in drugs' anaphylactoid reactions and their mechanisms [J]. Pharm Clin Res, 2023, 31(2): 159-163.
- [6] 陈桂荣, 徐煜彬, 冉小库, 等. Compound 48/80 诱导 BN 大鼠类过敏反应的蛋白组学研究 [J]. 现代药物与临床, 2019, 34(5): 1279-1284.
Chen G R, Xu Y B, Ran X K, et al. Proteomic study of Compound 48/80 induced anaphylactoid reaction in BN rats [J]. Drugs Clin, 2019, 34(5): 1279-1284.
- [7] 贺浪冲, 贺怀贞, 韩省力, 等. 基于细胞膜色谱技术的中药复杂体系目标物筛选分析装备 [J]. 西安交通大学学报(医学版), 2024, 45(3): 352-359, 351.
He L C, He H Z, Han S L, et al. Equipment for screening and analysis of target substances in the complex system of traditional Chinese medicine based on cell membrane chromatography technology [J]. J Xi'an Jiaotong Univ (Med Sci Ed), 2024, 45(3): 352-359, 351.
- [8] 高嘉盼, 车德路, 张涛, 等. 天然产物吉马酮致类过敏反应机制初步研究 [J]. 药科学报, 2019, 54(9): 1667-1672.
Gao J P, Che D L, Zhang T, et al. Preliminary study on the mechanism of anaphylactoid reaction induced by natural product germacrone [J]. Acta Pharm Sin, 2019, 54(9): 1667-1672.
- [9] 林园园, 贾倩倩, 孙卫, 等. 细胞膜色谱与 HPLC-ESI-IT-TOF-MS 二维在线联用筛选苍耳子中抗过敏组分 [J]. 中南药学, 2019, 17(9): 1397-1401.
Lin Y Y, Jia Q Q, Sun W, et al. Cell membrane chromatography coupled with online HPLC-ESI-IT-TOF-MS system to screen anti-anaphylactoid components from *Fructus Xanthii* [J]. Cent South Pharm, 2019, 17(9): 1397-1401.
- [10] Han S L, Zhang T, Huang J, et al. New method of screening allergenic components from Shuanghuanglian injection: With RBL-2H3/CMC model online HPLC/MS system [J]. J Pharm Biomed Anal, 2014, 88: 602-608.
- [11] Xia Z M, Zhu Q M, Shan Y, et al. MrgX2-targeting ligand screen for antipseudoallergic agents by immobilized his-tag-fused protein technology [J]. J Med Chem, 2025, 68(5): 5942-5953.
- [12] Baldo B A. MRGPRX2, drug pseudoallergies, inflammatory diseases, mechanisms and distinguishing MRGPRX2- and IgE/FcεRI-mediated events [J]. Br J Clin Pharmacol, 2023, 89(11): 3232-3246.
- [13] Nattkemper L A, Tey H L, Valdes-Rodriguez R, et al. The genetics of chronic itch: Gene expression in the skin of patients with atopic dermatitis and psoriasis with severe itch [J]. J Invest Dermatol, 2018, 138(6): 1311-1317.
- [14] Jia T, Che D L, Zheng Y, et al. Mast cells initiate type 2 inflammation through tryptase released by MRGPRX2/MRGPRB2 activation in atopic dermatitis [J]. J Invest Dermatol, 2024, 144(1): 53-62.e2.
- [15] Cao T B T, Cha H Y, Yang E M, et al. Elevated MRGPRX2 levels related to disease severity in patients with chronic spontaneous urticaria [J]. Allergy Asthma Immunol Res, 2021, 13(3): 498-506.
- [16] Manorak W, Idahosa C, Gupta K, et al. Upregulation of Mas-related G Protein coupled receptor X2 in asthmatic lung mast cells and its activation by the novel neuropeptide

- hemokinin-1 [J]. *Respir Res*, 2018, 19(1): 1.
- [17] McNeil B D, Pundir P, Meeker S, et al. Identification of a mast-cell-specific receptor crucial for pseudo-allergic drug reactions [J]. *Nature*, 2015, 519(7542): 237-241.
- [18] Subramanian H, Gupta K, Ali H. Roles of Mas-related G protein-coupled receptor X2 on mast cell-mediated host defense, pseudoallergic drug reactions, and chronic inflammatory diseases [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2016, 138(3): 700-710.
- [19] Kühn H, Kolkhir P, Babina M, et al. Mas-related G protein-coupled receptor X2 and its activators in dermatologic allergies [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2021, 147(2): 456-469.
- [20] 曾献邦, 袁燕平, 邓晓琴, 等. 新型高效渗透促进剂: 月桂氮草酮 [J]. *化工时刊*, 2009, 23(10): 38-40.
- Zeng X B, Yuan Y P, Deng X Q, et al. A new type of highly effective penetration enhancer: Laurocapram [J]. *Chem Ind Times*, 2009, 23(10): 38-40.
- [21] 衣迅. 月桂氮草酮的开发与应用 [J]. *精细与专用化学品*, 1999, 21: 13.
- Yi X. Development and application of lauriconazole [J]. *Fine Spec Chem*, 1999, 21:13.

[责任编辑 兰新新]