

小金胶囊药材组分过敏性研究

黄志军^{1,2} 梁鹏¹ 余黎³ 李霞² 肖飞² 赵刚²

(1 武汉理工大学化学化工与生命科学学院,武汉,430070; 2 健民药业集团股份有限公司药物研究院,武汉,430052;

3 南京中医药大学药学院,南京,210023)

摘要 目的:探讨小金胶囊主要药材组分的过敏性。方法:实验分为12组,包括空白对照组、阳性对照组和10组不同药材组,通过灌胃方式对大鼠给药,隔天1次,15 d后取抗血清,对RBL-2H3细胞进行培养,进行抗原攻击后,检测培养液中组胺和 β -氨基己糖苷酶的释放量。结果:制木鳖子组的细胞组胺释放量明显高于空白对照组($P < 0.05$),人工麝香组、制木鳖子组和乳没组的细胞 β -氨基己糖苷酶释放量明显高于空白对照组,但自制木鳖子组和制乳没组的细胞组胺和 β -氨基己糖苷酶释放量与空白对照组差异无统计学意义。结论:小金胶囊致敏药材可能为人工麝香、木鳖子和乳没,经适当方法炮制可降低其致敏性。

关键词 小金胶囊;药材;过敏性;大鼠;RBL-2H3细胞

Hypersusceptibility Study of Chinese Materia Medica Xiaojin Capsule

Huang Zhijun^{1,2}, Liang Peng¹, Yu Li³, Li Xia², Xiao Fei², Zhao Gang²

(1 School of Chemistry, Chemical Engineering and Life science, Wuhan University of Technology, Wuhan 430070, China;

2 Academy of Pharmaceutical Research, Jianmin Pharmaceutical Group Co., LTD, Wuhan 430052, China;

3 School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China)

Abstract Objective: To investigate the hypersusceptibility of Chinese Materia Medica Xiaojin Capsule. **Methods:** Blank control, positive control, and 10 groups of Chinese medicinal materials were set to fulfill the study. Drugs were orally administered every other day for 3 times. Serum was collected on 15 days after the first administration and used to bring up RBL-2H3 cells. Histamine and β -hexosaminidase were detected for hypersusceptibility evaluation. **Results:** Histamine release from RBL-2H3 cell of Cochinchina Momordica Seed group was obviously higher than that of blank group ($P < 0.05$). β -hexosaminidase release by RBL-2H3 cell of artificial musk group, Cochinchina Momordica Seed group, frankincense and myrrh group was higher than that of blank. However, there was no statistical difference between blank and processed products of Cochinchina Momordica Seed, frankincense and myrrh. **Conclusion:** The sensitized Materia Medica in Xiaojin capsule may be artificial musk, cochinchina momordicae seed, frankincense and myrrh. The appropriate processing methods can be used to reduce the sensitization.

Key Words Xiaojin capsule; Chinese Materia Medica; Hypersusceptibility; Rat; RBL-2H3 cell

中图分类号:R285.5 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2016.11.049

小金胶囊处方源于中医经典名方“小金丹”,主要由人工麝香、木鳖子(去壳去油)、制草乌、枫香脂、乳香(制)、没药(制)、当归(酒炒)、五灵脂(醋炒)、地龙、香墨等组成。方中制草乌温经散寒、通经络、化顽痰、消肿瘤,治恶疮,木鳖子散结消肿,攻毒疗疮,治恶疮,瘰疬,共为君药。地龙活血化瘀通经,当归、五灵脂、乳香、没药活血散瘀,消肿止痛,共为臣药。枫香脂凉血解毒,活血止痛,香墨止血生肌,消痈肿,人工麝香芳香走窜,活血通经,消肿止痛,为佐药。诸药合用,共奏散结消肿,化瘀止痛之功。小金胶囊主要用于阴疽初起,皮色不变,肿硬作痛,多

发性脓肿,瘰疬,瘰疬,乳岩,乳癖等症^[1]。临床上可用于甲状腺结节^[2-4]、淋巴结核、子宫肌瘤、乳腺增生^[1,5-6]、乳腺癌、前列腺增生^[7]等多种疾病^[8-12]的治疗。

通过检索关于小金系列产品(小金胶囊、小金丸等)的不良反报道文献,可以发现小金丸不良反应居多,而小金胶囊明显要少^[13]。赵敏等^[14]指出,小金胶囊相关的不良反应发生时间、累及器官和临床表现均与小金丸相似,但发生率较小金丸明显低。原因可能是小金丸崩解困难,药品在胃中很难完全崩解,使得小金丸在胃中的毒性和引起不良反应的

基金项目:2016年国家中医药管理局中药标准行动计划:小金胶囊标准化建设

作者简介:黄志军(1972—),男,博士,教授级高工,研究方向:从事中药药理学研究,Tel:(027)84520229,E-mail:542354589@qq.com

通信作者:赵刚(1983—),男,博士,高级工程师,研究方向:从事药物新药开发、药理毒理研究,Tel:(027)84523889,E-mail:158200458@qq.com

机会增加。此外,药品的服法不当也是小金丸引起不良反应的可能原因之一。而小金胶囊是对小金丸进行了剂型改进,胶囊崩解迅速,药物释放速度快,使其在胃中的毒性和引起不良反应的可能性大为减小。

首都医科大学附属北京朝阳医院张征^[15]通过对其医院应用的小金丸和小金胶囊不良反应进行整理分析,同样得出小金丸不良反应发生率明显高于小金胶囊(前者约为后者的4.6倍)。张征通过综述,一方面肯定了小金产品的疗效,另一方面指出其不良反应在停药后可减轻至消失,症状较严重的通过抗过敏治疗预后良好。但为了探明其发生原因,本文将设计实验对其主要药材成分进行过敏性研究,以探讨产品的致敏物来源。

1 材料与方法

1.1 药品 人工麝香、香墨、枫香脂、木鳖子、制木鳖子(去壳、去油)、乳香、没药、制乳香(醋炒)、制没药(醋炒)、制草乌、制地龙、制五灵脂(醋炒),健民药业集团股份有限公司提供;卵白蛋白(南京都莱生物技术有限公司生产,批号:P0010)。

1.2 试剂 胎牛血清(Invitrogen公司提供,批号:871310);0.25% Trypsin-EDTA(Invitrogen公司提供,批号:1074908);DMEM培养液(Invitrogen公司提供,批号:8112066);MTT(Biosharp公司提供,批号:BS030A);DMSO(成都市科隆化工试剂厂生产,批号:20091001);羧甲基纤维素钠(CMC-Na,国药集团化学试剂有限公司出品,批号:20120330);其他试剂均为分析纯。

1.3 动物及分组 SD大鼠,雄性,SPF级,250~300g,南京中医药大学提供,动物合格证号:SYXK(苏)2007-0030。所有动物随机分成12组,根据给予受试物药材灌胃情况分别为人工麝香组、香墨组、枫香脂组、制木鳖子组(去壳、压榨法去油)、自制木鳖子组(去壳、石油醚索氏提取法脱脂)、乳没组(乳香、没药等比混合给药)、制乳没组、制草乌组、制地龙组、制五灵脂组、空白对照组以及阳性对照组,每组6只动物。

1.4 药品配制及动物给药 取CMC-Na 5g,加入超纯水1000mL,加热搅拌至全部溶解,放冷备用。小金胶囊各药材均以CMC-Na溶液进行混悬,配制灌胃液。根据小金胶囊临床推荐用量换算大鼠给药量,各受试组大鼠给药量分别为:人工麝香组29.5mg/kg,香墨组11.8mg/kg,其余各组均为147.5mg/kg;空白对照组大鼠给予同体积空白

CMC-Na溶液;阳性对照组大鼠给予卵白蛋白多点皮下注射5mg/只。所有动物隔天给药1次,共3次,首次给药后15d,腹腔注射20%乌拉坦溶液麻醉,颈动脉采血,分离出抗血清,于-20℃冰箱保存。

1.5 细胞试验 细胞培养:RBL-2H3嗜碱性粒细胞,ATCC细胞株,购于上海研生实业有限公司。将RBL-2H3细胞以含有15%胎牛血清的DMEM培养基混悬,于37℃,5%CO₂条件下培养,待细胞贴壁生长后,2~3d换液1次,进行传代及冻存。过敏试验:调整细胞浓度至1~1.5×10⁶个/mL,细胞悬液0.5mL/孔接种于48孔板中,生长过夜。取前述制备的各组抗血清,50μL/孔加入细胞培养体系,于37℃,5%CO₂条件下共培养3h。将各组药物粉末以过量方式加入DMSO超声溶解30min,之后取DMSO提取液加入细胞培养体系,DMSO浓度不超过0.5%。样品加入后半小时内迅速收集各组细胞液50μL/孔,加入ELISA板中,按照试剂盒说明书进行组胺含量检测。剩余的细胞培养液24h后分别取100μL/孔,按照试剂盒说明书进行β-氨基己糖苷酶含量检测。

1.6 统计学方法 所有数据均采用均数和标准差表示,应用SPSS 18.0软件进行统计分析,以P<0.05为差异有统计学意义,以P<0.01为差异具有显著统计学意义。

2 结果

2.1 RBL-2H3细胞组胺释放结果 小金胶囊各药材组分经灌胃给药后抗血清对RBL-2H3细胞的组胺释放结果见图1。由图可见,RBL-2H3细胞组胺释放量较空白对照组高的为制木鳖子组(P<0.05),说明制木鳖子具有一定的致敏性,但自制木鳖子组的细胞组胺释放量则与空白对照组差异无统计学意义。小金胶囊成品采用的是经过去壳去油炮制的自制木鳖子,相对于普通制木鳖子致敏性明显降低。

2.2 RBL-2H3细胞β-氨基己糖苷酶释放结果 小金胶囊各药材组分经灌胃给药后抗血清对RBL-2H3细胞的β-氨基己糖苷酶释放结果见图2。由图可见,RBL-2H3细胞β-氨基己糖苷酶释放量较高的为人工麝香组(P<0.01)、制木鳖子组(P<0.05)和乳没组(P<0.01)。与组胺释放结果一致的是制木鳖子具有显著致敏性,而自制木鳖子致敏性明显降低,与空白对照组间差异无统计学意义。此外,本部分实验结果还显示,人工麝香组和乳没能明显增加β-

氨基己糖苷酶的释放,而制乳没组细胞的 β -氨基己糖苷酶释放量与空白对照组间差异无统计学意义。

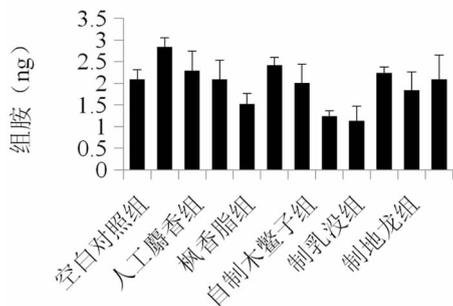


图1 小金胶囊各药材组分抗血清对 RBL-2H3 细胞释放组胺的影响

注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

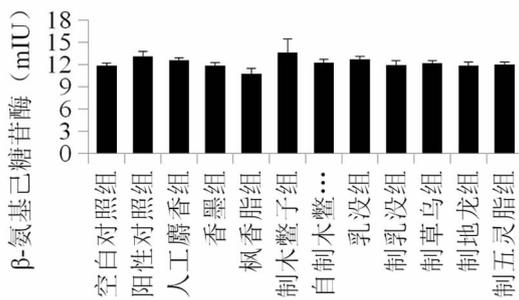


图2 小金胶囊各药材组分抗血清对 RBL-2H3 细胞释放 β -氨基己糖苷酶的影响

注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

3 讨论

本文所研究的不良反应为 I 型变态反应,致敏原通过刺激机体产生 IgE 抗体,IgE 与外周血中的嗜碱性粒细胞(BAS)及组织中肥大细胞(MC)上的 IgE 受体结合,使机体处于致敏状态。当相同抗原再次进入机体,可与吸附在靶细胞表面的 IgE 结合,激发细胞内一系列酶反应,使细胞脱颗粒,释放组胺、5-羟色胺等生物活性物质,引起系列过敏反应。在过敏反应中,MC 和 BAS 释放的主要活性物质包括组胺和 β -氨基己糖苷酶。组胺是过敏反应症状产生的最主要的活性物质之一,通过体外细胞培养试验,培养液中组胺含量的增高可以提示肥大细胞脱颗粒; β -氨基己糖苷酶是 MC 等释放的颗粒溶酶体酶中的一种,是标记 MC 脱颗粒的特异性蛋白,同样可以反应过敏发生程度^[16-17]。

小金丸含有多种成分,地龙为动物源性药物,制草乌、木鳖子有一定毒性,这些药物含有蛋白、多肽等大分子物质,均可能刺激机体产生抗体,导致过敏反应。制草乌的药理、药化以及炮制等理论已较为完善,生产中基本能做到安全用药,且其中毒反应多表现在中枢神经系统,因此,草乌可能不会导致过敏

性的发生。通过实验结果可看出,制草乌对 RBL-2H3 细胞释放组胺和 β -氨基己糖苷酶均无影响,验证了这一推测。

分析实验结果,小金胶囊中人工麝香、木鳖子与乳没均具有一定致敏性,但经过炮制的乳没致敏性明显降低,经常规方法炮制的木鳖子依然具有致敏性,而经过自制的方法炮制的木鳖子致敏性降低。综合实验结果分析,小金胶囊致敏药材可能为人工麝香、木鳖子和乳没,炮制方法则对药材的致敏性有很大影响,结果显示,本实验炮制方法可明显降低药材致敏性。当然,还需通过拆方进行更深入的探索以及进一步的实验验证才可判断确切的致敏源。

参考文献

- [1]徐婉飞.小金胶囊治疗乳腺增生合并子宫肌瘤的疗效观察[J].上海预防医学,2012,24(6):359-360.
- [2]江雅薇,宋恩峰,梅莎莎.小金胶囊治疗甲状腺结节临床研究[J].世界中医药,2016,11(1):83-85.
- [3]邵纯,叶美芳,赖松军.小金胶囊治疗甲状腺结节的临床观察[J].实用中西医结合临床,2015,15(11):65-66.
- [4]徐斌.小金胶囊辅助治疗结节性甲状腺肿的临床疗效及安全性[J].中外医疗,2015,34(36):108-109.
- [5]区烈良,易东生,李栋,等.他莫昔芬联合小金胶囊治疗乳腺增生症[J].齐齐哈尔医学院学报,2014,35(1):84-85.
- [6]陈娜,叶村,熊伟娜.小金胶囊联合乳腺电子膜治疗男性乳腺增生临床疗效观察研究[J].江西医药,2013,48(12):1180-1181.
- [7]陆薪如.小金胶囊对实验性小鼠前列腺增生的作用[J].浙江中医杂志,2014,49(6):406-407.
- [8]霍珊珊,刘厚广,李峥.红蓝光结合照射联合小金胶囊等治疗寻常痤疮临床观察[J].应用激光,2016,36(1):117-120.
- [9]杨蓉,胥艳.小金胶囊治疗男性尿道炎后综合征疗效研究[J].中国医药导刊,2014,16(4):699-700,702.
- [10]江少坤,蔡中琼,杨丽娟,等.孕三烯酮联合小金胶囊治疗子宫内膜异位症的临床观察[J].中国地方病防治杂志,2014(S1):237-238.
- [11]吴旭芳.中西医结合治疗亚急性甲状腺炎临床观察[J].中国中医急症,2013,22(5):832-833.
- [12]史敬毅.小金胶囊联合康复消炎栓治疗盆腔炎性疾病后遗症 110 例临床观察[J].齐齐哈尔医学院学报,2010,31(18):2924-2925.
- [13]周益.小金胶囊引起过敏反应 1 例[J].环球中医药,2011,4(4):303-304.
- [14]赵敏,孙瑞芳.小金胶囊致严重过敏反应 1 例[J].中国药物警戒,2013,10(7):445.
- [15]张征,张佳丽.小金丸及小金胶囊致 45 例不良反应分析[J].中国药物警戒,2012,9(4):242-244.
- [16]黄崇刚,李恒华,罗先钦,等.卵蛋白对 I 型变态反应实验影响因素的研究[J].时珍国医国药,2011,22(5):1230-1232.
- [17]林敏,潘颖怡,张彤,等. I 型变态反应实验室研究进展[J].中国医药导刊,2010,12(5):848-851.