

双黄连注射剂成分与类过敏靶点的网络关联性分析

张伟龙, 贺红, 谯茹, 贺鹏, 李文姣, 张良琦, 刘晓轩, 黄思琪, 潘雪*, 贺福元*

(湖南中医药大学药学院, 中药成药性与制剂制备湖南省重点实验室,
中医药超分子机理与数理特征化实验室, 长沙 410208)

[摘要] **目的:**基于网络药理学体系和中药复方定量谱学,建立一种以平衡常数为核心的拓扑网络分析方法,以探究双黄连注射剂(SHLI)中可能引起类过敏的成分群及其与网络靶点之间的作用关系。**方法:**72只SPF级SD雄性大鼠适应性喂养1周后,随机分为空白组、SHLI标准组、金银花组、黄芩组、连翘组与7组SHLI配比组(第1~7组),每组6只,对各组动物进行静脉滴注给药并在稳态后取血,建立各组试药及血浆成分的高效液相色谱法(HPLC)特征图谱,划分成分群并求算各组试药及血浆供试品中各成分群的峰面积变化值;采用酶联免疫吸附测定法(ELISA)测定动物血样中免疫球蛋白E(IgE)、组胺(HIS)、类胰蛋白酶(TPS)、总补体(CH50)和末端补体复合物(C5b-9)的类过敏指标变化情况;采用MATLAB R2020b v9.9.0软件计算各成分群与目标靶点的网络平衡常数及其构成矩阵的特征值,并根据其大小进行排序。**结果:**ELISA结果显示,与空白组比较,第1~3组IgE水平明显升高;第1~2组、第4~6组和SHLI标准组HIS水平明显升高;第4组CH50水平明显升高;第1组、第3~4组、金银花组和连翘组TPS水平明显升高;黄芩组C5b-9水平明显升高,差异均具有统计学意义($P<0.05$)。根据色谱峰保留时间,在HPLC图谱上分为C1~C6共6个成分群。各成分群网络平衡常数大小排序为 $C6>C4>C1>C5>C3>C2$,表明成分群C6对类过敏反应影响最大,最有可能为类致敏的反应原;特征值排序为 $C2>C5b-9>C3>C1>CH50>C6>C5>IgE>TPS>C4>HIS$,表明成分群C2对于整个网络贡献度最大。**结论:**该研究基于SHLI成分群与类过敏靶点网络关联性分析,明确了成分群C6可能是双黄连注射剂中潜在的过敏原;成分群C2可能为药物作用机制的关键节点,可为中药注射剂致敏原的筛查提供新的策略和方法。

[关键词] 双黄连; 中药注射剂; 类过敏反应; 网络关联性; 中药定量谱学; 拓扑网络分析; 高效液相色谱法(HPLC)

[中图分类号] R22;TQ450.2;R28;O657 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2024)19-0190-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20241063 **[增强出版附件]** 内容详见<http://www.syfjxzz.com>或<http://cnki.net>

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.r.20240517.0855.001>

[网络出版日期] 2024-05-17 13:30:44

Network Correlation Analysis Between Components of Shuanghuanglian Injection and Allergy-like Targets

ZHANG Weilong, HE Hong, QIAO Ru, HE Peng, LI Wenjiao, ZHANG Liangqi, LIU Xiaoxuan,
HUANG Siqu, PAN Xue*, HE Fuyuan*

(School of Pharmacy, Hunan Provincial Key Laboratory of Druggability and Preparation Modification of Traditional Chinese Medicine, Supramolecular Mechanism and Mathematic-physics Chracterization for Chinese Materia Medica, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

[Abstract] **Objective:** Based on the network pharmacology system and quantitative spectroscopy of traditional Chinese medicine (TCM) compounds, a topological network analysis method with equilibrium constant as the core was established to further explore the interaction between allergenic components and their

[收稿日期] 2024-02-28

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81874507,82274215);湖南省重点研发计划项目(2022SK2014);湖南省自然科学基金和科药联合基金项目(2021JJ80058,2022JJ30453,2023JJ60124);湖南省教育厅项目(22B0379);长沙市自然科学基金项目(kq2208192)

[第一作者] 张伟龙,在读硕士,从事中药药理、中药分析研究,E-mail:1849697646@qq.com

[通信作者] *贺福元,博士,教授,博士生导师,从事中药药理学、中药药剂学、中医药超分子与数理特征研究,E-mail:pharmsharking@163.com;

*潘雪,博士,从事中药复方物质基础及中医药超分子与数理特征化研究,E-mail:405465029@qq.com

network targets in Shuanghuanglian injection(SHLI), in order to provide new ideas and experimental basis for identifying and screening potential allergens of SHLI. **Method:** After one week of adaptive feeding, 72 SPF-grade SD male rats were randomly divided into blank group, SHLI standard group, Lonicerae Japonicae Flos (LJF) group, Scutellariae Radix(SR) group, Forsythiae Fructus(FF) group, and 7 groups of SHLI matching groups(groups 1-7), with 6 rats in each group. Rats in each group were administered the drug intravenously and blood samples were taken after steady state, high performance liquid chromatography(HPLC) characterization profiles of the testing drugs and plasma components in each group were established, and the peak area changes of the drugs and plasma components in each group were calculated after the component groups were classified. Enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) was used to determine the changes of immunoglobulin E(IgE), histamine (HIS), tryptase (TPS), total complement (CH50) and terminal complement complex (C5b-9) in animal blood samples. MATLAB R2020b v9.9.0 software was used to calculate the network balance constants of the component groups with the targets, and the eigenvalues of the matrices composed of network equilibrium constants were calculated and ranked according to their values. **Result:** ELISA results showed that, compared with the blank group, groups 1-3 could significantly increase the IgE level, groups 1-2, groups 4-6 and SHLI standard group could significantly increase the HIS level, group 4 could significantly increase the CH50 level, groups 1, 3-4, LJF group and FF group could significantly increase the TPS level, SR group could significantly increase the C5b-9 level, and the differences were all statistically significant($P<0.05$). According to the retention time of chromatographic peaks, it was classified into 6 component groups from C1 to C6 by HPLC. The order of the network balance constants of each component group was $C6>C4>C1>C5>C3>C2$, indicating that C6 had the greatest effect on the allergic reaction, and was most likely to be the allergen. The sequence of eigenvalues was $C2>C5b-9>C3>C1>CH50>C6>C5>IgE>TPS>C4>HIS$, indicating that component group C2 had the greatest contribution to the whole network. **Conclusion:** Based on the correlation analysis of SHLI component group and allergy-like target network, this study clarified that component group C6 may be a potential allergen in SHLI, and the component group C2 may be a key node in the mechanism of drug action, which can provide new strategies and methods for the screening of allergens in TCM injections.

[Keywords] Shuanghuanglian; traditional Chinese medicine (TCM) injection; anaphylactoid reaction; network relevance; quantitative spectroscopy of TCM; topological network analysis; high performance liquid chromatography(HPLC)

中药注射剂是从中药(复方)中提取有效物质进而制成供注射使用的无菌制剂^[1]。作为当代中医药创新取得的科技成果,中药注射剂正发挥其高效、速效、准效的特点而受到广大医疗患者的青睐^[2]。双黄连注射剂(SHLI)是较早获批的中药注射剂之一,是由金银花、黄芩、连翘提取物制成。SHLI具有广谱抗菌、抗病毒、抗炎、抗心律失常和免疫力增强等作用^[3-4],尤其对呼吸道疾病具有确切的疗效,已成为中医药治疗呼吸道感染性疾病的首选药物。然而,随着其在临床的广泛使用,SHLI引发的不良反应案例也日益增加^[5-6],而其中以危害较大的急性过敏反应最为突出^[7]。药物引起的急性过敏反应主要分为I型变态反应和类过敏反应^[8-9]。据相关研究显示,SHLI所导致的急性过敏反应中,77%属于类过敏反应^[10-11],复杂的类过敏现象机

制^[12-14]给SHLI的用药安全带来了严峻挑战。

目前,针对SHLI的类致敏性成分的研究,主要集中于单体成分筛选和SHLI的致敏性模型的体内外生物学研究^[15-19]。研究人员通过对比不同成分的致敏程度,来判断其致敏性的强弱,如易艳等^[20]采用化学分离与体内类过敏检测相结合的方法对SHLI的中间体成分进行类过敏反应筛选,发现连翘酯苷A和牛蒡苷等成分可导致明显的类过敏反应。韩佳寅^[21]比较连翘酯苷A、B、E对血管内皮细胞Ras同源物基因组成员(Rho)A/Rho相关卷曲螺旋蛋白激酶(ROCK)信号通路关键蛋白的表达情况,发现连翘酯苷A作用强于连翘酯苷B,而连翘酯苷E不致敏。还有学者对绿原酸、黄芩苷进行了致敏性研究,发现2种成分均具有致敏性^[22-23]。以上研究分别侧重于某一成分,系统性不强,SHLI作为一种

中药复方制剂,具有多成分、多途径、多靶点发挥药效的特点^[24-25],因此,针对特定单一成分的角度去研究其致敏性,工作量大且难以全面揭示其类致敏性成分。为了更全面、更深入地了解SHLI的类致敏性成分,本研究拟结合网络药物动力学、网络药效动力学所建立的数学模型,构建成分靶点网络作用关系,系统地探索中药复方中各成分之间作用及其对类过敏靶点[免疫球蛋白(Ig)E、组胺(HIS)、类胰蛋白酶(TPS)、总补体(CH50)、末端补体复合物(C5b-9)]的影响^[17],全面筛选出可能的致敏原成分群,研究其成分群与类致敏靶点的关联性。

1 材料

ACQUITY UPLC H-Class型超高效液相色谱仪(美国沃特世公司),TGL20型高温低速离心机(长沙英泰仪器有限公司),Q/OANN10-2008型万分之一电子分析天平(上海奥豪斯仪器有限公司),BCD-539WT型氮吹仪(青岛海尔股份有限公司),YB-B10001型千分之一电子天平(上海光正医疗仪器有限公司),InfinteF5型酶标仪(深圳恩科生物科技有限公司)。

双黄连粉针剂(哈药集团中药二厂,批号1403636,国药准字Z10940044,0.6 g/支,12支/盒),IgE、HIS、TPS、CH50、C5b-9酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒(长沙丽欣生物科技有限公司,批号分别为DZE30441、DZE30476、DZE30772、DZE30269、DZE30574),金银花(产地山东,批号140601)、黄芩(产地河北,批号131101)、连翘(产地河北,批号140601)均于湖南中医药大学第一附属医院药剂科定点采购。以上药材均经湖南中医药大学刘塔斯教授鉴定符合2020年版《中华人民共和国药典》标准。甲醇、乙腈均为色谱纯,活性炭,超纯水为实验室自制,其余试剂均为分析纯。

SPF级SD雄性大鼠72只,体质量180~220 g,购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司,合格证号SCXK(湘)2016-0002。饲养于湖南中医药大学实验动物中心SPF级动物房,室温(25±2)℃、相对湿度(60±10)%,12 h光暗交替环境。本实验中的动物护理和实验程序皆由湖南中医药大学动物伦理委员会批准,批准号LLBH-202110220001。

2 方法

2.1 注射液样品的配制

2.1.1 金银花注射液的配制 称取金银花250 g,加水浸泡30 min,煎煮2次,每次煎煮1 h,第1次加水2 000 mL,第2次加水1 400 mL,过滤后合并滤液,

浓缩冷却后,加入乙醇使含醇量达75%静置12 h,取上清液,减压回收乙醇至无醇味,加水400 mL,充分搅拌加热至沸腾,再静置48 h,滤取上清液,浓缩冷却后加入乙醇使含醇量达85%,再次搅拌,静置12 h,取上清液,减压回收乙醇至无醇味,加入活性炭,加入氢氧化钠溶液调节pH至7.0,加热微沸15 min,冷却,过滤,定容至100 mL后密封,沸水浴间歇灭菌后(共2次,每次1 h,下同),制得金银花注射液。

2.1.2 黄芩注射液的配制 称取黄芩300 g,碎断,加水煎煮2次,第1次2 400 mL,每次煎煮1 h,第2次1 500 mL,过滤后合并滤液,盐酸调pH至1.0~2.0,静置后过滤,沉淀加水后充分搅拌,氢氧化钠溶液调pH至7.0,加等量乙醇,充分搅拌后过滤,滤液用盐酸调pH至2.0,60℃保温30 min,静置12 h,过滤,沉淀用乙醇洗至pH至4.0,加10倍量水,氢氧化钠溶液调pH至6.0,加入活性炭,充分搅拌,50℃保温30 min,加入1倍量乙醇搅拌均匀后过滤,滤液用盐酸调pH至2.0,60℃保温30 min,静置12 h,过滤,沉淀用少量乙醇洗涤后,于60℃内干燥。将黄芩提取物加热并用氢氧化钠溶液溶解,再加入活性炭,加入盐酸调pH值至7.0加热微沸15 min,冷却,过滤,定容至100 mL后密封,沸水浴间歇灭菌后,制得黄芩注射液。

2.1.3 连翘注射液的配制 称取连翘300 g,加水浸渍30 min,煎煮2次,每次煎煮1 h,第1次2 400 mL,第2次2 000 mL,过滤后合并滤液,浓缩冷却后加入乙醇使含醇量达75%并充分搅拌,静置12 h,滤取上清液回收乙醇至无醇味,加水220 mL,充分搅拌,并加热至沸,静置48 h。滤取上清液,浓缩冷却后加入乙醇使含醇量达85%并充分搅拌,静置12 h,滤取上清液,回收乙醇至无醇味,加入活性炭,加入氢氧化钠溶液调节pH至7.0,加热微沸15 min,冷却,过滤,定容至100 mL密封,沸水浴间歇灭菌后,制得连翘注射液。

2.1.4 不同注射液供试品的配制 在无菌操作台中,按表1的配比方案[第1~7组按均匀 $U_7^*(7^4)$ 设计配比,另设金银花组、黄芩组和连翘组],取对应体积的3种注射液加入生理盐水至200 mL,备用。精密称取双黄连粉针剂0.525 g,加入生理盐水至200 mL,制成质量浓度为2.625 g·L⁻¹的注射液,作为SHLI标准组备用。

2.2 分组、给药与取材 动物适应性喂养1周后,随机分为空白组、SHLI配比组(第1~7组)、金银花组、黄芩组、连翘组和SHLI标准组,每组6只。采用尾静

表1 不同组别注射液组成配比

组别	金银花注射液	黄芩注射液	连翘注射液
第1组	0	4	8
第2组	2	10	2
第3组	4	0	12
第4组	6	6	6
第5组	8	12	0
第6组	10	2	10
第7组	12	8	4
金银花组	6	0	0
黄芩组	0	6	0
连翘组	0	0	3

脉滴注方式给药,根据预实验结果,确定药液滴注体积40 mL,滴注速度 $0.2\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,滴注3.5 h(5~6个半衰期),各给药组按2.1.4项下所配制药液给药,空白组给予等体积生理盐水,给药后麻醉大鼠,经腹主动脉取血,置于含有适量抗凝剂的采集管内,静置30 min, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $4\text{ }000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心15 min(离心半径9.9 cm,下同),取上清液血浆, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷冻,备用。

2.3 注射液及血浆供试品的制备 移取2.1.4项下配成的注射液各1 mL,经 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤,滤液置于进样小瓶,待测。取上述待测血浆 $400\text{ }\mu\text{L}$,加入甲醇1.6 mL沉淀蛋白, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $4\text{ }000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心15 min,取上清液,常温氮气吹干,加入甲醇 $200\text{ }\mu\text{L}$,超声处理(功率320 W,频率40 kHz), $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $12\text{ }000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心15 min后取上清液,置于进样小瓶, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存,待测。

2.4 注射液及血浆样品的高效液相色谱法(HPLC)检测

2.4.1 色谱条件 Ultimate AQ- C_{18} 色谱柱($4.6\text{ mm}\times 250\text{ mm}$, $5\text{ }\mu\text{m}$),以流动相0.4%磷酸水溶液(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0~8 min,95%~87%A;8~20 min,87%~70%A;20~30 min,70%A;30~35 min,70%~95%A;35~45 min,95%A),检测波长330 nm,柱温 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$,流速 $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,进样量 $10\text{ }\mu\text{L}$ 。

2.4.2 方法学考察 分别取2.3项下制备的黄芩、连翘、金银花注射液供试品,按2.4.1项下的色谱条件进样检测,每组连续进样6次,计算主要色谱峰面积的相对标准偏差(RSD)验证仪器的精密度。分别取2.3项下制备的黄芩、连翘、金银花注射液供试品,按2.4.1项下的色谱条件在0、2、4、8、12、24 h进样检测,每组平行进样6次,计算主要色谱峰面积的RSD验证24 h内供试品的稳定性。按2.3项下方法平行制备6份注射液供试品,按2.4.1项下色谱条

件进样检测,计算主要色谱峰面积的RSD验证实验的重复性。

2.4.3 样品检测与分析 取2.3项下所得注射液及血浆供试品,按2.4.1项下条件进样检测,得到HPLC色谱图。利用总量统计矩公式^[26],求得各注射液样品的总量零阶矩参数,再根据SHLI标准组浓度求得各组试药的换算浓度;将各血浆样品所得HPLC色谱图按色谱峰保留时间划分成分群。

2.5 ELISA检测大鼠血浆中的类过敏靶点指标

取2.3项下所得各组大鼠血浆供试品,严格按照ELISA试剂盒说明书要求检测IgE、HIS、TPS、CH50和C5b-9 5个类过敏反应的靶点指标含量。

2.6 数据分析 根据类过敏靶点指标变化量,求算各组动物给药前后体内类过敏靶点指标的变化率,利用成分群给药后的峰面积,构建网络矩阵。具体为通过对模型中所有参数给定初始值,并在初始值附近以增量形式作泰勒级数展开,取增量一次式构成所有参数增量表达式,化非线性回归为求算增量形式的多元线性方程组,解线性方程组得增量值,经多次迭代后,当模型与实验值之差的平方和最小时可获得各网络药物动力学参数,最后算得成分与靶点之间的平衡常数和特征值。通过Microsoft Excel 2016软件把矩阵转化为“net”格式,将其导入Pajek 5.11软件通过Networks功能可构建SHLI成分群与类过敏靶点的网络图。本研究选用中药复方静脉滴注给药模型^[27],给予 n 次不同比例的药物,每次给药后取 m 次血样,可测得不同比例各节点 $m\times n$ 个曲线下面积(AUC),可组成 $m\times n$ 个方程,参照数学模型(1)~(n),通过克莱姆法则、逆拉氏变换计算后,即可解得系数矩阵 $A(K)$ ^[28-29]、成分与靶点之间的平衡常数与特征值矩阵 M 。

$$\frac{dc_1}{dt} = K_{01} - (K_{10} + K_{12} + K_{13} + \cdots + K_{1n})c_1 + K_{21}c_2 + K_{31}c_3 + \cdots + K_{n1}c_n \quad (1)$$

$$\frac{dc_2}{dt} = K_{02} + K_{12}c_1 - (K_{20} + K_{21} + K_{23} + \cdots + K_{2n})c_2 + K_{32}c_3 + \cdots + K_{n2}c_n \quad (2)$$

$$\frac{dc_3}{dt} = K_{03} + K_{13}c_1 + K_{23}c_2 - (K_{30} + K_{31} + K_{32} + \cdots + K_{3n})c_3 + \cdots + K_{n3}c_n \quad (3)$$

$$\cdots \cdots \frac{dc_n}{dt} = K_{0n} + K_{1n}c_1 + K_{2n}c_2 + K_{3n}c_3 + \cdots - (K_{n0} + K_{n1} + K_{n2} + \cdots + K_{n(n-1)})c_n \quad (n)$$

3 结果

3.1 不同注射液供试品的浓度换算 方法学考察结

果显示,在精密度、稳定性和重复性试验中,各主要色谱峰面积的RSD均<5%,表明本方法的精密度、稳定性和重复性良好。不同注射液供试品的HPLC色谱信息见图1。结果显示,各组供试样品主要成分群出峰时间集中在11.59~28.99 min;SHLI标准组的成分群出峰时间与金银花、黄芩、连翘3个单药材的成分群出峰时间基本一致。其中金银花主要成分群出峰时间集中在13.09~23.19 min,黄芩主要成分群出峰时间集中在2.70~5.80 min,连翘主要成分群出峰时间集中在7.25~23.19 min,SHLI标准组成分出峰时间集中在5.80~26.69 min。通过对比3味药材和SHLI标准组色谱图的出峰时间和出峰数量的分布情况,可以推断SHLI成分峰主要来源于金银花和连翘。各组SHLI试药的总量零阶矩参数与换算浓度见表2。

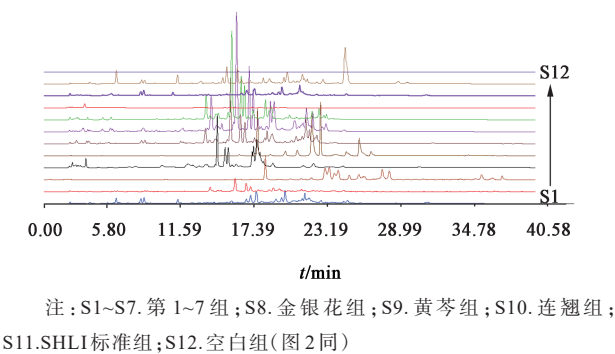


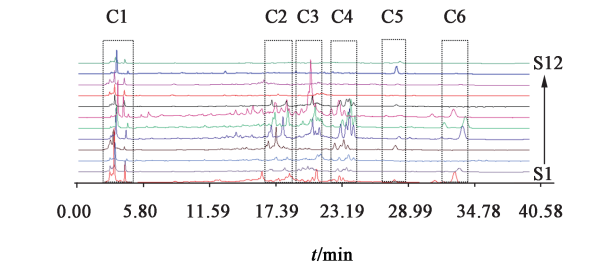
图1 各组注射液的HPLC叠加
Fig. 1 HPLC superposition of each group of injection

表2 各组注射液的总量零阶矩参数与换算浓度
Table 2 Zero-order moment parameters and converted concentrations of each group of injection

组别	零阶矩参数/ $\mu\text{g}\cdot\text{min}\cdot\text{L}^{-1}$	换算质量浓度/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
空白组	24.96	0.003
第1组	16 365.94	1.689
第2组	4 289.45	0.443
第3组	11 913.13	1.229
第4组	21 165.69	2.184
第5组	13 744.24	1.418
第6组	24 403.55	2.518
第7组	45 451.70	4.691
金银花组	27 783.32	2.867
黄芩组	1 663.26	0.172
连翘组	10 261.60	1.059
SHLI标准组	25 436.37	2.625

3.2 动物含药血浆成分群的划分 各血浆供试品的HPLC色谱信息见图2。根据成分峰群变化规律,将

其按保留时间划分为C1~C6共6个主要成分群。各成分群出峰时间段分别为2.70~4.27 min(C1)、17.18~19.60 min(C2)、19.90~21.71 min(C3)、22.18~24.55 min(C4)、27.74~28.10 min(C5)、32.85~34.55 min(C6)。进一步扣除空白血浆图谱的影响,即可算出对应成分群峰面积的差值,可看作给药后成分群峰面积变化量,其中C1峰面积前三为第1、4、7组,C2峰面积前三为第1、6、7组,C3和C4峰面积前三为第5~7组,C5峰面积前三为第4、7组和SHLI标准组,C6峰面积前三为第1、5、6组。见表3。



注:C1~C6.成分群1~6
图2 各组大鼠血浆的HPLC叠加
Fig. 2 HPLC superposition of rat plasma from each group

表3 不同注射液给药后成分群峰面积变化量
Table 3 Variation of peak areas of component groups after administration of different injections

成分群	C1	C2	C3	C4	C5	C6
第1组	326.18	260.98	156.46	179.37	10.21	129.87
第2组	127.88	73.05	106.19	74.28	-9.01	45.35
第3组	50.35	67.95	166.93	85.05	-14.36	17.56
第4组	149.27	232.25	19.17	168.30	27.25	0.00
第5组	140.64	224.32	348.11	503.42	7.28	178.07
第6组	87.06	309.28	386.71	363.48	-5.14	163.86
第7组	166.37	486.88	776.26	260.07	16.21	99.47
金银花组	39.66	56.68	143.64	137.32	0.59	4.56
黄芩组	30.77	8.92	67.22	1.61	-11.92	0.00
连翘组	81.46	13.83	57.34	35.36	-5.45	7.32
SHLI标准组	45.97	62.68	37.53	64.41	49.47	7.69

3.3 不同注射液对类过敏靶点的影响 与空白组比较,第1~3组可使IgE水平明显升高;第1~2组、第4~6组和SHLI标准组使HIS水平明显升高;第4组可使CH50水平明显升高;第1组、第3~4组金银花组、连翘组可使TPS水平明显升高;黄芩组可使C5b-9水平明显升高,差异均具有统计学意义($P<0.05$)。其中第1~3组引起了IgE的升高,属于过敏反应;而其余组未使IgE水平升高,属于类过敏反应。由此可知,SHLI确能引起类过敏反应,且与金银花、连翘中的成分引起TPS水平升高,黄芩中的成分引起C5b-9水平升高相关,见表4、表5。

表4 不同注射液对类过敏靶点指标的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 4 Effect of of different injections on allergy-like targets ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	IgE/mg·L ⁻¹	HIS/mg·L ⁻¹	C5b-9/ μ g·L ⁻¹	CH50/U·mL ⁻¹	TPS/ μ g·L ⁻¹
空白组	82.44±7.52	2.05±0.58	23.19±5.74	77.51±17.17	138.00±16.81
第1组	103.61±6.30 ¹⁾	2.85±0.70 ¹⁾	24.41±4.44	64.41±17.51	197.53±56.76 ¹⁾
第2组	103.75±17.89 ¹⁾	2.41±0.22 ¹⁾	24.27±4.39	49.38±22.16 ¹⁾	170.73±39.46
第3组	147.23±28.95 ¹⁾	1.85±0.33	24.49±3.68	59.62±8.23	209.39±29.40 ¹⁾
第4组	108.38±36.23	2.52±0.41 ¹⁾	29.38±6.54	98.87±9.88 ¹⁾	202.66±43.23 ¹⁾
第5组	74.18±25.74	2.74±0.46 ¹⁾	30.23±5.73	64.12±19.18	156.13±30.40
第6组	79.97±16.45	2.61±0.30 ¹⁾	30.16±6.77	78.86±8.33	182.02±41.83
第7组	70.34±12.99	2.37±0.82	28.44±7.72	56.09±11.58 ¹⁾	113.44±32.46
金银花组	71.79±7.73	2.10±0.42	28.90±10.01	82.90±10.63	199.40±28.69 ¹⁾
黄芩组	96.53±14.14	2.09±0.82	32.32±6.22 ¹⁾	54.23±7.37 ¹⁾	130.46±31.17
连翘组	72.53±10.01	2.03±0.22	26.97±8.22	89.75±13.26	191.50±48.70 ¹⁾
SHLI标准组	79.69±4.15	3.63±0.90 ¹⁾	24.31±7.06	85.87±25.46	196.47±61.79

注:与空白组比较¹⁾P<0.05

表5 不同注射液对类过敏靶点指标变化率的影响

Table 5 Effect of of different injections on change rate of anaphylactoid target index %

组别	IgE	HIS	C5b-9	CH50	TPS
第1组	25.68	38.80	5.25	-16.90	43.14
第2组	25.85	17.32	4.67	-36.29	23.72
第3组	78.59	-9.72	5.62	-23.08	51.73
第4组	31.47	23.10	26.72	27.57	46.86
第5组	-10.02	33.43	30.38	-17.27	13.14
第6组	-3.00	27.46	30.06	1.75	31.90
第7组	-14.68	15.75	22.66	-27.64	-17.79
金银花组	-12.92	2.45	24.65	6.96	44.49
黄芩组	17.09	1.93	39.38	-30.04	-5.46
连翘组	-12.01	-0.84	16.30	15.80	38.77
SHLI标准组	-3.34	77.09	4.83	10.80	42.37

3.4 SHLI主要成分与靶点的网络平衡常数的计算

根据SHLI不同配比注射液对类过敏靶点指标变化率的影响,求算各组动物给药前后体内血样指标含量的AUC;再利用给药后各成分群峰面积变化量,构建6成分群5靶点的网络矩阵。参照公式(1)~(n),在MATLAB 9.9.0软件中编程求算,得SHLI静脉滴注的网络动力学方程见增强出版附加材料。进一步求算得6成分群5靶点网络平衡常数,见表6。其中,平衡常数越大,显示成分靶点间的作用越快,影响越大,距离越紧密。结果显示,成分群C1~C6均对类过敏靶点C5b-9、CH50为正向作用,对其他靶点为负向作用。成分群对靶点影响大小综合排序为:C6>C4>C1>C5>C3>C2,说明成分群6对类过敏影响最大,其最有可能为致敏原;此外,特征值的大小决定了网络节点的动力学行为,可反映该节点对整个网络贡献的大小,特征值越大说明

节点对整个网络贡献作用越大^[30-32],从计算结果可知根据网络平衡常数矩阵计算其特征值,其大小综合排序为:C2(3 263.1)>C5b-9(1 212.8)>C3(1 146.5)>C1(1 004.3)>CH50(367.6)>C6(324.0)>C5(310.6)>IgE(277.7)>TPS(186.7)>C4(155.0)>HIS(48.4),据此可知成分群C2对于整个类过敏网络体系的影响最大。

4 讨论

中药注射剂的安全性问题,特别是其可能引发的类过敏反应,一直是中医药领域的研究热点。SHLI为中药多成分群制剂,以单成分独个试查,工作量巨大,较难全面地筛查到致敏性成分。本研究通过对SHLI成分群和类过敏靶点进行检测与分析,成功构建了SHLI成分群与类过敏靶点间的网络动力学数学模型,这一模型不仅体现了中药多成分与类过敏反应间的复杂关系,也为揭示中药的潜在致敏机制提供了有力的数据支撑。根据本研究结果,计算出SHLI中6个成分群与5个类过敏靶点的网络动力学平衡常数,确定成分群C6对类过敏反应影响最大,但目前尚未对该成分群进行深入的定性研究,课题组将在后续实验利用对该成分群进行全面的定性分析,并对其中具体成分进行类过敏实验验证,以提升对SHLI潜在致敏成分的筛查效率和准确性。本研究结合了网络药理学与中药复方定量谱学,建立了以平衡常数为核心的多成分、多靶点网络关系模型,不仅大幅减少了单一成分逐一筛查的繁琐工作,更加真实地反映出中药复杂体系中多成分、多靶点的协同作用,从而快速有效地识别出导致类过敏反应的关键成分群^[33],可为中药注射剂致敏原的筛查提供一种全新的思路和方法。

表6 SHLI成分群与类过敏靶点的网络平衡常数
Table 6 Network equilibrium constants of SHLI component groups and allergy-like targets

成分与靶点	C1	C2	C3	C4	C5	C6	IgE	HIS	C5b-9	CH50	TPS
C1	0.00	-263.77	92.67	-12.53	25.11	-26.19	-3.91	-22.45	98.03	29.71	-15.09
C2	21.29	0.00	24.31	-3.29	6.59	-6.87	-1.03	-5.89	25.71	7.79	-3.96
C3	59.07	-191.93	0.00	-9.12	18.27	-19.06	-2.85	-16.34	71.33	21.62	-10.98
C4	104.97	-341.07	119.83	0.00	32.47	-33.87	-5.06	-29.03	126.76	38.42	-19.51
C5	68.15	-221.45	77.80	-10.52	0.00	-21.99	-3.29	-18.85	82.30	24.95	-12.67
C6	121.02	-393.23	138.16	-18.68	37.43	0.00	-5.83	-33.47	146.15	44.30	-22.50
IgE	225.46	-732.59	257.39	-34.80	69.73	-72.74	0.00	-62.35	272.27	82.53	-41.91
HIS	137.80	-447.73	157.31	-21.27	42.62	-44.46	-6.64	0.00	166.40	50.44	-25.61
C5b-9	8.27	-26.86	9.44	-1.28	2.56	-2.67	-0.40	-2.29	0.00	3.03	-1.54
CH50	50.90	-165.38	58.11	-7.86	15.74	-16.42	-2.45	-14.08	61.47	0.00	-9.46
TPS	126.16	-409.94	144.03	-19.47	39.02	-40.70	-6.08	-34.89	152.36	46.18	0.00

本研究也存在一定的局限性,目前尚未利用气相色谱-质谱法(GC-MS)、液相色谱-质谱法(LC-MS)等分析检查技术对SHLI的成分群进行深入的分析。同时,实验条件下的给药方式和制备流程与工业实际存在一定的差异,这也可能对实验结果的准确性和普适性造成一定影响。为了弥补这些不足,计划在后续的研究中引入更为先进的技术手段,对SHLI的成分群进行更为详尽的检测与分析,并在实验设计和操作流程上更加贴近工业实际。综上所述,本研究通过构建网络动力学数学模型,成功揭示了SHLI中多成分与类过敏靶点之间的复杂作用关系,但该模型仍有待进一步完善和验证,下一步将综合运用先进的检测技术和人工智能算法,以期在筛查中药注射剂潜在致敏成分上取得新的突破。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

[1] 唐伟,石庆平,马涛,等. 双黄连注射剂不良反应发生率的Meta分析[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(14): 2732-2742.

[2] 邓国艳,周鑫,刘红宇,等. 中药注射剂类过敏反应的实验方法研究进展[J]. 药物评价研究, 2023, 46(8): 1787-1793.

[3] 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.

[4] 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.

[5] 范潇予,林琳,魏金锋,等. 中药注射剂过敏类反应研究新思路[J]. 毒理学杂志, 2018, 32(4): 327-331.

[6] 崔盈盈,吴嘉瑞,张丹,等. 基于数据挖掘的清热类中药注射剂不良反应流行病学特点研究[J]. 药物流行病学杂志, 2017, 26(10): 675-682.

[7] 顾媛媛,李殿明,石朗,等. 注射用双黄连安全性问题研究近况[J]. 中国药房, 2015, 26(15): 2156-2157.

[8] ERDMANN S M, ABUZAHA F, MERK H F, et al. Anaphylaxis induced by glucocorticoids [J]. J Am Board Fam Pract, 2005, 18(2): 143-146.

[9] WARRINGTON R, SILVIU-DAN F, WONG T. Drug allergy [J]. Allergy Asthma Clin Immunol, 2018, 14 (Suppl 2): 60.

[10] 邹凤丹,李永林,纪亚明,等. 中药注射剂不良反应/事件回顾性分析[J]. 中成药, 2021, 43(1): 285-288.

[11] 高春联,苗明三. 双黄连注射液药理与临床研究分析[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(12): 3066-3070.

[12] 易艳,田婧卓,李春英,等. 中药注射剂上市后非临床安全性再评价类过敏反应相关研究[J]. 中国药物警戒, 2022, 19(2): 185-188, 204.

[13] 梁爱华,易艳. 中药注射剂超敏反应评价和风险控制相关问题的思考[J]. 药学进展, 2020, 44(10): 752-758.

[14] 李月,段金连,白雯,等. 大分子物质对中药注射剂外观颜色的影响[J]. 中医药导报, 2018, 24(23): 43-48.

[15] 陈莉,季文君,戴国英,等. 基于MrgrpX2的双黄连注射剂中潜在成分虚拟筛选[J]. 世界中医药, 2021, 16(3): 504-508.

[16] 汪芳,李存玉,郑云枫,等. 双黄连注射液中8种主要成分对RBL-2H3细胞的影响[J]. 中成药, 2016, 38(7): 1615-1617.

[17] ZHANG C, OUYANG L, ZHANG X, et al. Anaphylactoid reactions induced by Shuanghuanglian injection and Shenmai injection and metabolomics analysis[J]. Front Pharmacol, 2023, 14: 1200199.

[18] 郑竹. 基于RBL-2H3细胞模型研究注射用双黄连致敏物质基础[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2016.

[19] 李彦林,周云丰,李琳,等. 双黄连注射液及其中间品对RBL-2H3细胞增殖的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(7): 116-119.

[20] 易艳,张宇实,李春英,等. 双黄连注射液致类过敏物质筛选研究[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(14): 2727-2731.

[21] 韩佳寅. RhoA/ROCK信号通路在青霉素和双黄连注

- 注射液过敏反应中的作用研究[D]. 北京:中国中医科学院,2017.
- [22] 林敏,钱华勤,张彤,等. 绿原酸致过敏反应的实验研究[J]. 上海中医药杂志,2010,44(9):65-67.
- [23] 袁丽燕,黄洪林,涂海华. 双黄连注射剂的不良反应研究[J]. 中国中医药信息杂志,2010,17(10):41-42.
- [24] 马丽娜,顾媛媛,何婷,等. 基于细胞响应谱的注射用双黄连(冻干)质量评控研究[J]. 中草药,2023,54(24):8127-8134.
- [25] 孙启慧. 双黄连制剂抑菌抗病毒药效物质基础和组方结构配伍及作用机理研究[D]. 济南:山东中医药大学,2019.
- [26] 贺福元,周宏灏,邓凯文,等. 指纹图谱的一种定性定量研究新方法:总量统计矩分析法[J]. 药学报,2008,43(2):195-201.
- [27] 贺福元,周宏灏,罗杰英. 多成分药物代谢网络动力学数学模型建立及参数分析[J]. 中国临床药理学与治疗学,2007,12(12):1321-1331.
- [28] 李文姣,肖美凤,李海英,等. 中药超分子“印迹模板”作用对成分簇动态性与稳态性变化规律的理论研究[J]. 中草药,2023,54(8):2659-2667.
- [29] 贺琪珺,盛丹丹,陈宇霞,等. 4味归肺经中药的黄酮成分簇“印迹模板”特征分析及其体外归经研究方法建立[J]. 中国实验方剂学杂志,2024,30(9):141-147.
- [30] 谯茹,樊启猛,贺鹏,等. 补阳还五汤抗脑卒中网络药理学研究[J]. 中草药,2024,55(1):127-137.
- [31] 吴月峰,刘金玲,陈定芳,等. 基于UPLC-Q-TOF-MS联合网络药理学的桑源药材不同入药部位改善胰岛素抵抗的物质基础[J]. 中国实验方剂学杂志,2023,29(2):149-158.
- [32] 朱志飞,刘有志,吴月峰,等. 基于超分子“印迹模板”理论分析身痛逐瘀汤基准样品的质量属性[J]. 中国实验方剂学杂志,2023,29(11):171-178.
- [33] 陈定芳,吴月峰,李海英,等. 基于外泌体的精准信使靶向性和中医药超分子“气析”理论的中医药现代化实验研究思路与策略探索[J]. 中国实验方剂学杂志,2022,28(7):198-206.

[责任编辑 李嘉麟]

·书讯·

中医抗癌扶正法治疗晚期恶性肿瘤的临床疗效 ——评《实用晚期恶性肿瘤综合治疗手册》第2版

恶性肿瘤,尤其是晚期恶性肿瘤,已经成为威胁人体健康的重要疾病。其发生率随年龄的增长而增加,且严重影响患者的生活质量。晚期肿瘤患者由于自身抵抗力低下,心、肺、肾功能以及免疫系统均可能出现不同程度的衰退,从而影响了外科手术的疗效。此外,肿瘤细胞具有较高的转移风险,增加了治疗的难度。中医抗癌扶正法在晚期肿瘤的治疗中展现出了积极的作用,该方法不仅能够有效缓解患者的痛苦,而且有助于抗癌和增强机体的免疫功能。中医抗癌扶正法能够通过体外抑制肿瘤的转移活性来发挥疗效,因此在临床上对晚期肿瘤患者具有重要的应用价值。在实际治疗过程中,中医抗癌扶正法通常与特定的中药结合使用,如华蟾素注射液和参麦注射液等。但这些药物的使用应根据患者的具体情况及药物特性进行合理选择,以尽量减少可能出现的不良反应,保障患者的治疗效果。基于此,本文结合《实用晚期恶性肿瘤综合治疗手册》第2版,深入探讨中医抗癌扶正法治疗晚期恶性肿瘤的有效性与价值。

该书由殷东风,高宏主编主编,于2019年2月在辽宁科学技术出版社出版发行。本书以晚期恶性肿瘤的典型症状为线索,系统梳理了晚期恶性肿瘤各阶段的诊疗及护理策略。书中对各种症状的成因、诊断进行了深度的剖析,并重点阐述了各种症状的针对性治疗手段,涵盖了西医治疗、中医治疗、针灸治疗等多个领域。恶性肿瘤通常采用化疗和放疗进行干预治疗,虽能缓解病情,但疾病发展速度快,对患者的生活质量和身体健康造成严重威胁。在临床表现方面,恶性肿瘤通常以局部病灶为主,而从中医的角度来看,需要根据患者的全身症状进行辨证施治。中医认为,肿瘤的发生是因为正气不足、痰凝湿聚、脏腑经络功能失调以及气滞血瘀。尤其是中、晚期恶性肿瘤患者,由于瘀血长期存在于机体,对机体的气血造成较大损害,因此,很多患者会出现不同程度的临床症状,治疗上多以抗癌扶正为主。其次,据现代医学研究,肿瘤的生长与免疫系统的状况密切相关,免疫功能减弱可能会加速肿瘤的恶化。由于患者免疫力的下降,极易受到疾病的侵害,同时影响治疗的效果。因此,提升免疫功能,通过调整身体平衡来对抗肿瘤,显得非常关键。在临床治疗中,中医的抗癌扶正疗法不仅能够针对性地提升治疗效果,还可以提高患者的生活水平。中医抗癌扶正疗法是一种治疗晚期癌症的有效临床治疗方法,展现了中医中药在预防及治疗肿瘤方面的特色与优势。华蟾素注射液,以中华大蟾蜍的阴干全皮为原料,通过精细的工艺提炼而成,是一种疗效显著的注射液。华蟾素的主要抗肿瘤机制包括抑制肿瘤细胞DNA和RNA的生物合成,抑制肿瘤细胞增殖,诱导肿瘤细胞凋亡,影响瘤基因的表达,抑制肿瘤血管形成,以及增强机体免疫功能。参麦注射液源于《症因脉治》的参冬饮,由人参、麦冬提炼而成,具有大补元气、益气固脱、养阴生津、扶正固本的功效。本书旨在为广大临床医生提供一本实用、可操作性强的参考资料,以助力更好地开展临床治疗。在癌症治疗过程中,通常会采用化学疗法或放射疗法来消灭癌细胞。然而,这种治疗方式也会对患者的正常细胞产生影响,引发一系列不良反应,如免疫力下降、食欲减退、脱发、体质量减轻和焦虑等。因此,本书还深入探讨了癌症病名的告知、患者知情同意以及精神心理障碍等相关问题,旨在帮助临床医生全面理解并妥善处理与癌症患者相关的伦理和心理问题。

综上所述,《实用晚期恶性肿瘤综合治疗手册》第2版一书将进一步启发临床对晚期癌症诊疗手段的探索。对于晚期恶性肿瘤患者来说,采用中医抗癌扶正法进行治疗,可以显著提高疗效,控制肿瘤的发展,减轻不良炎症反应,从而提高患者的生存质量。

(作者刘伟,黑龙江省哈尔滨世济中医院,哈尔滨 150000)