

痰热清注射液的安全药理学动物实验评价

胡俊^{1*}, 张小利^{2*}, 杨春¹, 陆锦遥¹, 王琼¹, 谷颖敏¹, 谢家骏¹, 张超超^{1,3#}, 田雪松^{1#}

(1. 上海中医药大学创新中药研究院, 上海 201203; 2. 上海凯宝药业股份有限公司, 上海 201401; 3. 上海中医药大学实验动物中心, 上海 201203)

[摘要] 目的 观察痰热清注射液对 Beagle 犬心血管系统、呼吸系统及 ICR 小鼠中枢神经系统的影响, 为其临床用药提供安全性实验数据。方法 24 只 Beagle 犬雌雄各半, 按体质量随机分为低剂量 (2.5 mL 原液/kg)、中剂量 (5.0 mL 原液/kg)、高剂量 (10.0 mL 原液/kg) 痰热清注射液组和溶剂对照组, 每组 6 只; 麻醉状态下, 右前肢内侧皮下头静脉推注给药, 测定给药前、给药 40 min 和 80 min, 以及给药后 5、10、20、30、60、90、120、150、180、210 和 240 min 的血压、心率、心电图及呼吸情况。160 只 ICR 小鼠雌雄各半, 其中 60 只按体质量随机分为低剂量 (3.6 mL 原液/kg)、中剂量 (6.25 mL 原液/kg)、高剂量 (12.5 mL 原液/kg) 痰热清注射液组和溶剂对照、阳性对照组, 尾静脉注射给药后观察小鼠一般行为和自发活动; 对 50 只同样分组的小鼠, 测定给药后不同时间点的协调运动情况; 对另外 50 只同样分组的小鼠, 测定给药后阈下睡眠剂量戊巴比妥钠的协同作用。结果 痰热清注射液各剂量组与相同时间点的溶剂对照组及自身给药前相比, Beagle 犬的收缩压、平均动脉压、心电图及呼吸频率的差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 个别时间点的舒张压和心率差异有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 但未见明显的剂量或时效相关性。给药后高剂量组 ICR 小鼠各时间点的自发活动均减少 ($P < 0.05$, $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$), 而协调运动评级在给药后 30、50 及 90 min 均明显增高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$)。结论 在本实验条件下, 单次静脉推注痰热清注射液对 Beagle 犬的心血管、呼吸系统无明显影响; 高剂量痰热清注射液对 ICR 小鼠的中枢神经系统有一定影响, 主要表现为自发活动减少, 协调运动障碍, 可能与其主要有效成分熊胆粉相关。

[关键词] 痰热清注射液; 安全药理学; Beagle 犬; 小鼠

[中图分类号] Q95-33; R932 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2021)01-0046-09

Safety Pharmacology Evaluation of Tanreqing Injection by Animal Experiment

HU Jun^{1*}, ZHANG Xiaoli^{2*}, YANG Chun¹, LU Jinyao¹, WANG Qiong¹, GU Yingmin¹, XIE Jiajun¹, ZHANG Chaochao^{1,3#}, TIAN Xuesong^{1#}

(1. Innovation Research Institute of Traditional Chinese Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 2. Shanghai Kai Bao Pharmaceutical Co., Ltd., Shanghai 201401, China; 3. Laboratory Animal Research Center, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

*These two authors contributed equally.

#Correspondence to: ZHANG Chaochao, E-mail: stonezcc@163.com; TIAN Xuesong, E-mail: xuesong.tian@shutcm.edu.cn

[Abstract] **Objective** To observe the effects of Tanreqing injection on the cardiovascular and respiratory systems in Beagle dogs and the central nervous system in ICR mice, and to provide the animal safety data for its clinical application. **Methods** A total of 24 Beagle dogs (12 males and 12 females) were randomly divided into low dose (2.5 mL stock solution/kg), medium dose (5 mL stock solution/kg), high dose (10 mL

[基金项目] 上海市“科技创新行动计划”生物医药领域科技支撑项目(19401901000)

[作者简介] 胡俊(1986—), 男, 助理实验师, 从事中药毒理学研究。E-mail: hujun19860720@163.com

张小利(1976—), 女, 硕士, 高级工程师, 从事中药新药研发。E-mail: xlzhang_ha@163.com。* 共同第一作者

[通信作者] 张超超(1981—), 男, 硕士, 高级实验师, 从事实验动物研究。E-mail: stonezcc@163.com

田雪松(1973—), 男, 博士, 研究员, 硕士生导师, 从事中药毒理及药物安全性评价研究。E-mail: xuesong.tian@shutcm.edu.cn

共同通信作者

stock solution/kg) Tanreqing injection groups and a solvent control group according to their body weight; there were 6 dogs in each group with intravenous injection at the right cephalic vein of forelimb under anesthesia. Then the blood pressure, heart rate, electrocardiogram and respiration rate were measured before, during at 40 and 80 min, as well as 5, 10, 20, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 and 240 min after administration of Tanreqing injection. A total of 160 ICR mice (half male and female) were selected, and 60 of them were randomly divided into low dose (3.6 mL stock solution/kg), medium dose (6.25 mL stock solution/kg), high dose (12.5 mL stock solution/kg) Tanreqing injection groups, a solvent control and a positive control groups according to their weight, and their general behavior and spontaneous activity were recorded after different doses of Tanreqing injection via the tail vein. The coordinated movement of other 50 mice with the same grouping method were measured at different time points after administration of Tanreqing injection. The synergistic effect of pentobarbital sodium hypnosis at subliminal dosage was tested in the rest of 50 mice with the same grouping method. **Results** Compared with the solvent control group at the same time point or the group itself before administration, there were no significant differences in systolic pressure, mean arterial pressure, electrocardiogram and respiration rate (all $P>0.05$) of the Beagle dogs in the Tanreqing injection groups at different doses; while the diastolic pressure and heart rate at some time points were statistically significant ($P<0.05$ or $P<0.01$), but there was no dose or time dependent effect. The spontaneous activity of the ICR mice was decreased at each time point ($P<0.05$, $P<0.01$ or $P<0.001$), and the coordinated movement grades were increased at 30, 50 and 90 min after high-dose Tanreqing administration ($P<0.05$, $P<0.01$ or $P<0.001$). **Conclusion** No significant effects of Tanreqing injection on the cardiovascular and respiratory systems of Beagle dogs are found after single intravenous injection in this experiment. High-dose Tanreqing injection has certain effects on the central nervous system of mice, mainly reduced spontaneous activity and in coordinated movement, which may be related to bear bile powder, the main active ingredient of Tanreqing injection.

[Key words] Tanreqing injection; Safety pharmacology; Beagle dogs; Mice

痰热清注射液是国家中药二类新药，配方中以黄芩为君药，熊胆粉和山羊角为臣药，金银花为佐药，连翘为使药；药少力专，配伍精当，具有清热解毒、化痰等功效；主治上焦湿热毒火、痰热壅阻肺络等证，对现代医学中肺炎早期、急性支气管炎、慢性支气管炎急性发作及上呼吸道感染属上述证候者的疗效确切^[1-3]。目前，痰热清注射液亦用于治疗新型冠状病毒肺炎（corona virus disease 2019, COVID-19），同时中国临床试验注册中心批准了“大剂量痰热清注射液治疗新型冠状病毒肺炎（COVID-19）真实世界临床研究”（注册号 ChiCTR2000029432）和“痰热清胶囊治疗新型冠状病毒肺炎（COVID-19）临床试验”（注册号 ChiCTR2000029813）两项临床试验，以评价痰热清注射液治疗 COVID-19 的有效性及安全性^[4]。

为进一步明确痰热清注射液的安全性，观察其毒性反应症状，并探讨不同种属动物对药物毒性反应的差异，本研究使用 Beagle 犬和 ICR 小鼠

对痰热清注射液进行安全药理学研究再评价，以期为该药物的临床应用提供安全性评价实验数据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

普通级 Beagle 犬 24 只，雌雄各半，体质量为 6.4~8.3 kg，购自上海新冈实验动物场[SCXK（沪）2012-0009]；实验犬饲养于上海中医药大学普通级犬房[SYXK（沪）2014-0008]，环境温度 16~26 °C，相对湿度（40~70）%，换气次数≥8 次/h，人工控制照明，昼夜交替时间为 12 h/12 h。SPF 级 ICR 小鼠 160 只，雌雄各半，体质量为 16~18 g，购自上海西普尔-必凯实验动物有限公司[SCXK（沪）2013-0016]；实验鼠饲养于上海中医药大学 SPF 级屏障设施[SYXK（沪）2014-0008]，环境温度 21~23 °C，相对湿度（48~68）%，换气次数≥15 次/h，人工控制照明（明暗 12 h/12 h）。所有动物实

验方案均经上海中医药大学实验动物伦理委员会审查批准(编号:SZY201504021)。

1.2 药品与主要试剂

痰热清注射液(棕红色澄明液体,规格 10 mL/支,含 10% 丙二醇作为助溶剂,批号 1308317)由上海凯宝药业股份有限公司提供^[2],临用时用氯化钠注射液稀释成所需剂量的溶液(ICR 小鼠实验中低、中、高剂量组稀释比例分别为 1:6、1:3 和 1:1,Beagle 犬实验中低、中、高剂量组稀释比例分别为 1:7、1:3 和 1:1)。痰热清注射液空白对照液(含 10% 丙二醇的无色澄明液体,规格 10 mL/支,批号 1308317)由上海凯宝药业股份有限公司提供,临用时用氯化钠注射液稀释成所需浓度的溶液(ICR 小鼠及 Beagle 犬实验中均按照体积比为 1:3 稀释)。阳性对照药物地西洋(规格 2.5 mg/片,批号 14140701)购自上海上药信谊药厂有限公司。戊巴比妥钠(白色粉末,纯度 $\geq 98\%$,批号 WS20130112)为德国 Merck 公司生产,进口分装。上述药品均密封,避光,置于阴凉干燥处保存。

1.3 实验仪器

ME203 型电子天平(仪器编号:20131673)为瑞士 Mettler Toledo 公司产品;YLS-1A 多功能小鼠自主活动记录仪(仪器编号:20020620、20061560)为济南益延科技发展有限公司产品;PowerLab 16 道生理记录仪(仪器编号:20080750)购自埃德仪器国际贸易(上海)有限公司;AJ-5803 型电脑微量注射泵(仪器编号:20101335)购自上海安洁电子有限公司。

1.4 Beagle 犬心血管、呼吸系统实验

Beagle 犬按体质量分层随机分为 4 组,每组 6 只,雌雄各半,分别为溶剂对照组、痰热清注射液低剂量组、中剂量组和高剂量组。低、中、高剂量组分别经右前肢内侧皮下头静脉电脑微量注射泵推注痰热清注射液 2.5 mL 原液/kg、5.0 mL 原液/kg、10.0 mL 原液/kg(每千克动物体质量给药体积为 20 mL,每条犬推注 80 min,每分钟低于 60 滴),溶剂对照组经头静脉推注等体积的痰热清注射液空白对照液。给药前实验犬均禁食不禁水过夜。戊巴比妥钠麻醉后记录给药前、给药 40 min 和 80 min,以及给药后 5、10、

20、30、60、90、120、150、180、210 和 240 min 的收缩压、舒张压、平均动脉压、心率、心电图(R 波振幅、PR 间期、QRS 波群间期、QT 间期及 T 波振幅),记录呼吸频率和呼吸深度等指标。

1.5 ICR 小鼠中枢神经系统实验

1.5.1 观察小鼠一般行为和自发活动次数

ICR 小鼠 60 只,按给药前自发活动次数随机分为 5 组,每组 12 只,雌雄各半,分别为溶剂对照组、阳性对照组和痰热清注射液低剂量组、中剂量组、高剂量组。低、中、高剂量组分别经尾静脉注射痰热清注射液 3.6 mL 原液/kg、6.25 mL 原液/kg、12.5 mL 原液/kg(每千克动物体质量给药体积为 25 mL),阳性对照组灌胃给予地西洋 2.0 mg/kg,溶剂对照组经尾静脉注射等体积的痰热清注射液空白对照液。给药前各组小鼠均禁食 3~5 h,观察给药后 2.0 h 内的一般行为变化,如姿态、步态、流涎、流汗、肌颤及瞳孔变化等。用多功能小鼠自主活动记录仪记录给药前及给药后 10、30、60、90 和 120 min 小鼠自发活动次数。每次记录前,先将小鼠置于自主活动仪中适应 3 min,记录 5 min 内小鼠的自发活动次数。

1.5.2 测定小鼠协调运动情况

给药前 2 d,每日用一根表面光滑、垂直竖立的金属棒(直径 1.5 cm,长度 80.0 cm),训练小鼠爬竿,3 次/d。给药当日,按协调运动障碍评级标准(表 1),挑取检疫合格且评分为 0.0 级的小鼠 50 只,按体质量随机分为 5 组,每组 10 只,雌雄各半,分别为溶剂对照组、阳性

表 1 协调运动障碍评级标准

Table 1 Grades of coordinated movement

级别	评分标准
0.0	一步一步向下爬行
0.5	一步一步向下爬行,向下滑行或跳下的长度 < 20 cm
1.0	向下滑行
1.5	不能抓住棒,向下滑行的长度 < 20 cm
2.0	不能抓住棒
2.5	不能抓住棒,翻正迟钝
3.0	翻正反射消失

对照组和痰热清注射液低剂量组、中剂量组、高剂量组（除给予阳性对照药物地西洋 3.0 mg/kg 外，其余给药方法与剂量同 1.5.1 节）。给药前，各组小鼠禁食 3~5 h，分别于给药前及给药后 10、30、50、90 及 120 min 将小鼠头朝下放在棒的顶端，任小鼠自然向下爬行，以测定协调运动情况。

1.5.3 阈下睡眠剂量戊巴比妥钠协同作用实验

小鼠 50 只，按体质量随机分为 5 组，每组 10 只，雌雄各半，分别为溶剂对照组、阳性对照组和痰热清注射液低剂量组、中剂量组、高剂量组（给药方法与剂量同 1.5.2 节）。给药前，各组小鼠禁食 3~5 h，尾静脉注射空白对照液及痰热清注射液后（阳性对照组灌胃 3.0 mg/kg 地西洋后 30 min），小鼠腹腔立即注射戊巴比妥钠 30 mg/kg，以翻正反射消失达 1 min 以上者计为发生睡眠，计算各组睡眠发生百分率。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 21.0 软件进行统计学分析。计量资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。Beagle 犬心血管、呼吸系统实验及小鼠自发活动实验结果数据采用方差分析，方差齐时进行单因素方差分析，各剂量组与对照组之间比较采用 LSD-*t* 检验或 SNK-*q* 检验；方差不齐时进行 Kruskal-Wallis 非参数检验，各剂量组与对照组之间比较采用 Mann-Whitney *U* 检验。小鼠协调运动实验结果数据采用秩和检验，

小鼠阈下睡眠剂量戊巴比妥钠协同作用实验结果数据采用卡方检验。以 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

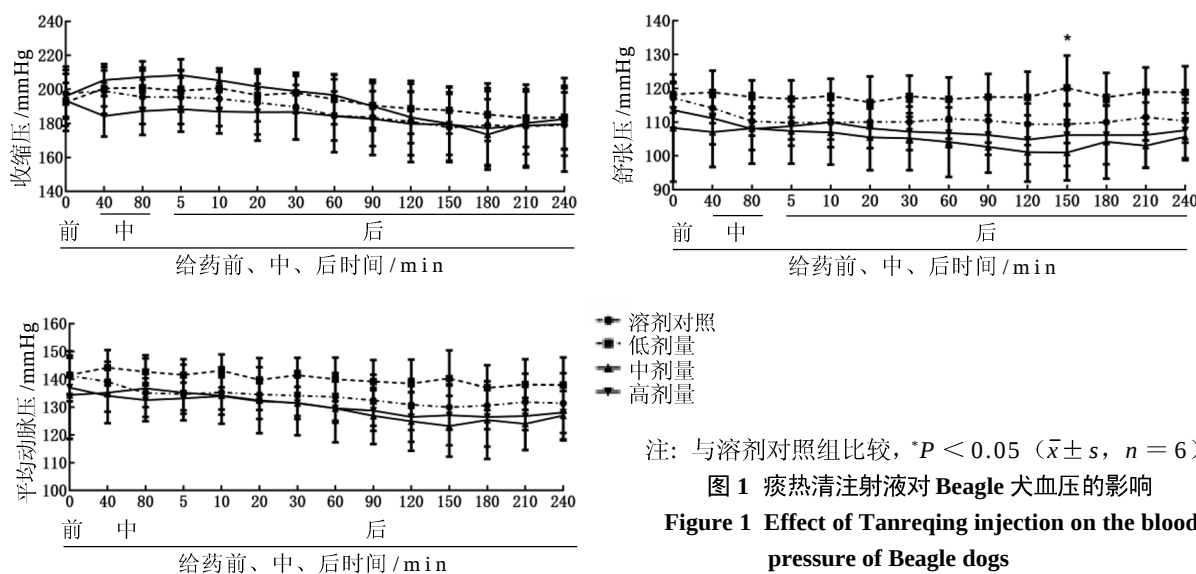
2.1 痰热清注射液对 Beagle 犬心血管系统、呼吸系统的影响

2.1.1 对血压的影响

给药前各组 Beagle 犬的收缩压均值为 192~198 mmHg，舒张压均值为 108~118 mmHg，平均动脉压均值范围在 134~142 mmHg。给药过程中及给药后各剂量组的收缩压、平均动脉压变化不明显，与自身给药前或相应时间点的溶剂对照组相比均无明显差异（均 $P > 0.05$ ）。而舒张压在低剂量组给药后 150 min 比溶剂对照组明显升高（ $P < 0.05$ ），但与自身给药前相比无明显差异（ $P > 0.05$ ）；中、高剂量组在给药过程中及给药后，舒张压变化不明显，与自身给药前或相应时间点的溶剂对照组相比均无明显差异（均 $P > 0.05$ ）。结果见图 1。

2.1.2 对心率的影响

给药前，各组 Beagle 犬的心率均值范围为 194~218 次/min。给药过程中及给药后随时间推移，各组心率均有一定程度的下降：高剂量组在给药后 10 min、20 min 的心率与对照组相比，



下降明显 (均 $P < 0.05$); 与自身给药前相比, 给药后 180、210 及 240 min 的心率下降明显 (均 $P < 0.05$)。低、中剂量组在给药过程中及给药后心率变化不明显, 与自身给药前或相应时间点的溶剂对照组相比, 均无明显差异 (均 $P > 0.05$)。结果见图 2。

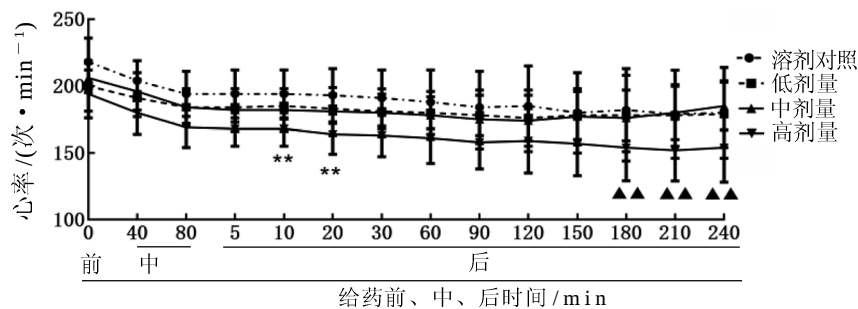
2.1.3 对心电图的影响

给药过程中及给药后, 各组 Beagle 犬心电图

的 R 波振幅、PR 间期、QRS 波群间期、QT 间期及 T 波振幅变化不明显, 与自身给药前或同时间点溶剂对照组相比均无明显差异 (均 $P > 0.05$)。结果见图 3。

2.1.4 对呼吸的影响

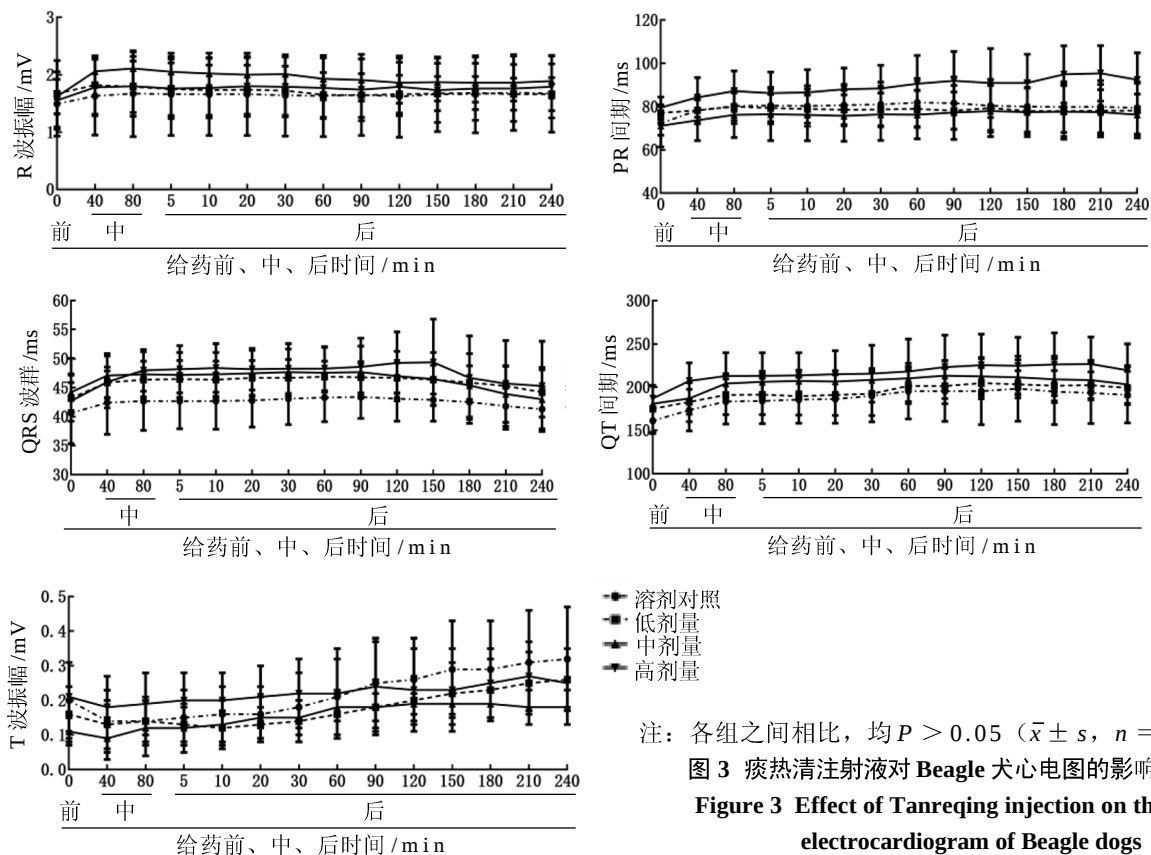
给药前, 各组 Beagle 犬的呼吸频率均值范围为 22~30 次/min, 呼吸深度变化不明显; 给药过程中及给药后, 各剂量组的呼吸频率、呼吸深



注: 与溶剂对照组比较, ** $P < 0.01$; 与自身给药前比较, ▲ $P < 0.01$ ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)。

图 2 痰热清注射液对 Beagle 犬心率的影响

Figure 2 Effect of Tanreqing injection on the heart rate of Beagle dogs



注: 各组之间相比, 均 $P > 0.05$ ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)。

图 3 痰热清注射液对 Beagle 犬心电图的影响

Figure 3 Effect of Tanreqing injection on the electrocardiogram of Beagle dogs

度变化均不明显, 与自身给药前或同时间点溶剂对照组相比均无明显差异 (均 $P > 0.05$)。结果见图 4。

2.2 痰热清注射液对 ICR 小鼠中枢神经系统的影响

2.2.1 对一般行为和自发活动的影响

各剂量的痰热清注射液对小鼠姿态、步态、流涎、流汗、肌颤及瞳孔变化等一般行为无明显影响。在自发活动方面, 低剂量组与溶剂对照组在各时间点相比无明显差异 (均 $P > 0.05$)。中剂量组给药后 10 min 自发活动减少, 与溶剂对照组相比有明显差异 ($P < 0.05$), 其余时间点相比无明显差异 ($P > 0.05$)。高剂量组、阳性对照组给药后各时间点小鼠活动均减少, 与溶剂对照组相比均有明显差异 ($P < 0.05$, $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$)。结果见表 2。

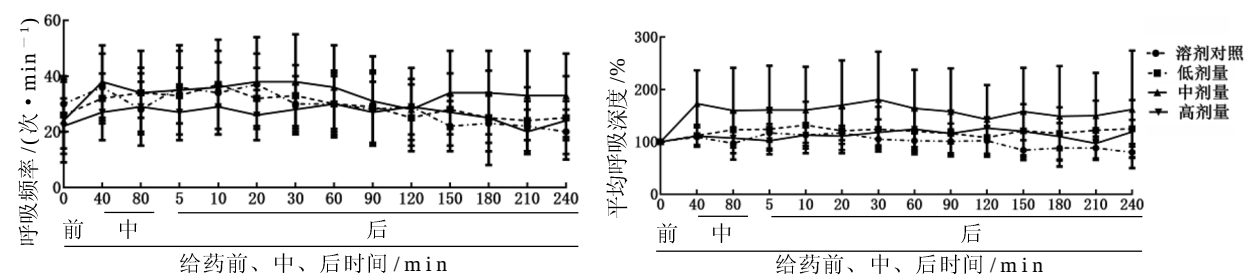
2.2.2 对协调运动的影响

与溶剂对照组相比, 低、中剂量痰热清注

射液对小鼠协调运动无明显影响 (均 $P > 0.05$); 高剂量给药后 30、50 及 90 min 与溶剂对照组相比, 协调运动障碍评级升高, 有明显差异 ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$), 给药后 120 min 有所恢复 ($P > 0.05$)。与溶剂对照组比较, 阳性对照组小鼠协调运动障碍的评级明显升高, 在给药后各时间点均有极明显差异 ($P < 0.001$)。结果见表 3。

2.2.3 对阈下睡眠剂量戊巴比妥钠协同作用的影响

溶剂对照组、低剂量和中剂量痰热清注射液组均无小鼠睡眠, 高剂量组 4 只小鼠 (雌雄各半) 睡眠, 睡眠发生的百分率与溶剂对照组相比无明显差异 ($P > 0.05$)。给予阳性对照药物地西洋 30 min 时, 腹腔注射阈下睡眠剂量的戊巴比妥钠, 10 只小鼠全部睡眠 (雌雄各半), 睡眠发生的百分率与溶剂对照组相比有明显差异 ($P < 0.001$)。



注: 各组之间相比, 均 $P > 0.05$ ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)。

图 4 痰热清注射液对 Beagle 犬呼吸的影响

Figure 4 Effect of Tanreqing injection on the respiration of Beagle dogs

表 2 痰热清注射液对小鼠自发活动的影响

Table 2 Effect of Tanreqing injection on the spontaneous activity of mice

(次数, $\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

组 别	给药前	给药后/min				
		10	30	60	90	120
溶剂对照组	203 ± 18	143 ± 58	88 ± 53	98 ± 39	88 ± 55	81 ± 36
低剂量组	204 ± 21	119 ± 54	68 ± 32	82 ± 33	62 ± 26	63 ± 27
中剂量组	201 ± 18	95 ± 40*	64 ± 26	96 ± 43	67 ± 40	65 ± 47
高剂量组	202 ± 16	93 ± 57*	41 ± 19*	44 ± 29**	26 ± 19***	44 ± 32*
阳性对照组	205 ± 16	45 ± 23***	13 ± 9***	15 ± 15***	9 ± 8***	16 ± 15***

注: 与溶剂对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

表 3 痰热清注射液对小鼠协调运动的影响
Table 3 Effect of Tanreqing injection on the coordinated movement of mice

(只, $n = 10$)

组 别	评级	给药前	给药后 /min				
			10	30	50	90	120
溶剂对照组	0.0 级	10	10	10	10	10	10
	0.5 级	0	0	0	0	0	0
	1.0 级	0	0	0	0	0	0
	1.5 级	0	0	0	0	0	0
	2.0 级	0	0	0	0	0	0
低剂量组	0.0 级	10	10	10	10	10	10
	0.5 级	0	0	0	0	0	0
	1.0 级	0	0	0	0	0	0
	1.5 级	0	0	0	0	0	0
	2.0 级	0	0	0	0	0	0
中剂量组	0.0 级	10	10	10	10	10	10
	0.5 级	0	0	0	0	0	0
	1.0 级	0	0	0	0	0	0
	1.5 级	0	0	0	0	0	0
	2.0 级	0	0	0	0	0	0
高剂量组	0.0 级	10	10	6	0	3	8
	0.5 级	0	0	4	0	7	2
	1.0 级	0	0	0 *	8 ***	0 **	0
	1.5 级	0	0	0	2	0	0
	2.0 级	0	0	0	0	0	0
阳性对照组	0.0 级	10	0	0	0	0	0
	0.5 级	0	0	0	0	0	0
	1.0 级	0	0 ***	4 ***	9 ***	9 ***	9 ***
	1.5 级	0	5	2	1	1	1
	2.0 级	0	5	4	0	0	0

注：与溶剂对照组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ，*** $P < 0.001$ 。

3 讨论

安全药理学主要是研究药物使用剂量在治疗范围内或治疗范围以上时，对生理功能的潜在、不期望出现的不良影响，主要包括观察药物对中枢神经系统、心血管系统和呼吸系统的影响^[5-7]。研究呼吸、心血管系统时，一般采用非啮齿类动物（犬、猴等）测定给药前后血压、心电图和心率的变化；研究中枢神经系统时，一般采用啮齿类动物，定性和定量评价给药后动物的运动功能、行为改变、协调功能和感觉/运动反射等的变化。本研究选用 Beagle 犬测定痰热清注射液对心血管、呼吸系统的影响，选用 ICR 小鼠测定该

药物对中枢神经系统的影响。

痰热清注射液在人体中的常用量为 20 mL，重症患者一次可用 40 mL（按成年人体质量 60 kg，临床剂量约为 0.33 mL 原液/kg 或 0.67 mL 原液/kg 计算）。按照安全药理学实验的剂量设定原则“应包括或超过主要药效学的有效剂量或治疗范围”^[5]，本研究中 ICR 小鼠实验的低剂量设定为 3.6 mL 原液/kg，中、高剂量分别设定为 6.25 mL 原液/kg、12.5 mL 原液/kg，相当于人体临床日常用量的 11 倍、19 倍及 38 倍，或重症患者的 5 倍、10 倍及 19 倍；Beagle 犬实验的低、中、高剂量分别为 2.5 mL 原液/kg、5 mL 原液/kg、10 mL 原液/kg，相当于人体临床日常用量的 8 倍、

15 倍及 30 倍,或重症患者的 4 倍、8 倍及 15 倍。痰热清注射液的主要活性成分是黄芩苷、熊去氧胆酸和鹅去氧胆酸(是熊胆粉的主要活性成分)。已有文献报告,大鼠静脉注射痰热清注射液后,黄芩苷、熊去氧胆酸和鹅去氧胆酸的半衰期($t_{1/2}$)分别为 (48.19 ± 12.74) min、 (56.19 ± 33.33) min 和 (109.96 ± 58.39) min^[3]。故本次实验记录小鼠给药后 120 min、犬给药后 240 min 的药物安全性,涵盖了痰热清注射液主要组分的半衰期。

本研究发现,在收缩压、平均动脉压、心电图及呼吸方面,痰热清注射液各剂量组与相同时间点的溶剂对照组及自身给药前相比,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。在舒张压方面,仅低剂量组在给药后 150 min 与溶剂对照组相比明显升高($P < 0.05$),但与自身给药前相比差异无统计学意义($P > 0.05$);中、高剂量组在给药过程中及给药后,与自身给药前或相应时间点的溶剂对照组相比差异均无统计学意义($P > 0.05$),故不认为药物对舒张压有明显影响。在心率方面,高剂量组在给药后 10 和 20 min 与同时间的溶剂对照组相比,心率明显下降($P < 0.01$),但是与自身给药前相比差异无统计学意义($P > 0.05$);与给药前相比,给药后 180、210 及 240 min 的心率明显下降($P < 0.01$)。值得注意的是,原始数据显示,高剂量组 4101 号犬在给药前心率较慢(仅 170 次/min),给药后 180、210 和 240 min 的心率分别为 124、127 和 129 次/min,剔除该动物后则无明显差异($P > 0.05$)。综合分析后,笔者认为,该时间段心率下降未见明显的剂量或时效相关性(超过主要活性成分的 2 个半衰期),可能与动物的个体差异有关,故不认为痰热清注射液对 Beagle 犬心率有明显的影响。以上结果提示,痰热清注射液在受试剂量范围内对心血管系统和呼吸系统是安全的。

在自发活动方面,痰热清注射液中剂量组在给药后 10 min 小鼠自发活动减少($P < 0.05$),但其余各时间点均无明显差异;因给药后 10 min 时间点的一般行为无明显改变,协调运动亦无明显差异($P > 0.05$),综合分析认为 10 min 的自发活动减少与药物无关;高剂量组、阳性对照

组给药后各时间点自发活动均减少($P < 0.05$, $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$),高剂量在给药后 120 min 开始有所恢复,这可能与药物逐渐代谢有关。协调运动实验中,痰热清注射液高剂量给药后 30、50 和 90 min 以及阳性对照组给药后各时间点的协调运动障碍评级升高($P < 0.05$, $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$),出现明显的协调运动障碍。阈下睡眠剂量戊巴比妥钠实验中,高剂量组有 4 只小鼠睡眠,但与溶剂对照组相比的差异无统计学意义($P > 0.05$);阳性对照组则全部睡眠,差异明显($P < 0.001$),显示戊巴比妥钠与地西泮具有协同作用。上述结果表明,小鼠尾静脉注射低、中及高剂量的痰热清注射液后,高剂量痰热清注射液对中枢神经系统有一定影响,主要表现为自发活动减少及协调运动障碍。已有文献报告,熊胆及引流熊胆能够抑制小鼠自主活动,与水合氯醛有明显的协同作用,可对抗去氧麻黄碱的兴奋作用,并抑制戊四氮致惊厥的作用,故具有镇静、抗惊厥功效^[8-9]。因此,笔者认为高剂量痰热清注射液对中枢神经系统的影响可能与痰热清注射液中主要活性成分之一熊胆粉相关。

痰热清注射液上市后安全性再评价数据显示,不良反应以皮肤及其附件为主,但是也存在心血管(心悸、血压降低等)、呼吸(呼吸困难、胸闷等)及中枢神经(头晕、头疼及昏睡等)系统的不良反应,究其原因主要是由药物本身因素、患者因素及用药因素引起^[10-12]。需要注意的是,静脉滴注痰热清注射液的滴速不宜过快,否则容易引起头晕、胸闷^[11]。笔者认为,血压降低也许与滴速过快相关。预实验显示快速滴注(每条犬推注 40 min)时血压快速下降,因此正式实验时修订为每条犬推注 80 min,即不再出现此现象。另外,给予痰热清注射液治疗可能会引起镇静、嗜睡,乃至昏睡,这些中枢神经系统症状可能与熊胆粉的药理作用相关。

综上所述,本实验进一步补充和完善了痰热清注射液的安全性实验数据,为其在临床上的应用提供了新的实验依据。

参考文献:

- [1] 高益民,王忠山.对痰热清注射液临床药学初步评价[J].

- 首都医药, 2004, 11(12):44-46. DOI:10.3969/j.issn.1005-8257.2004.12.021.
- [2] 林育华, 周超凡. 从痰热清注射液看中药新药开发[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(2):5. DOI: 10.3321/j.issn:1001-5302.2004.02.036.
- [3] 胡杰利, 刘绍勇, 张振华, 等. 痰热清注射液中主要活性成分在大鼠体内的药动学研究[J]. 中草药, 2013, 44(13): 1779-1785. DOI:10.7501/j.issn.0253-2670.2013.13.015
- [4] 孔 艺, 吴红卫, 陈 永, 等. 基于网络药理学和分子对接探讨痰热清注射液治疗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的机制[J]. 中草药, 2020, 51(7):1785-1794. DOI:10.7501/j.issn.0253-2670.2020.07.012.
- [5] 国家食品药品监督管理总局药品审评中心. 药物安全药理学研究技术指导原则[EB/OL]. (2014-05-13)[2020-05-01]. <http://www.cde.org.cn/zdyz.do?method=largePage&id=187>.
- [6] 郭健敏, 许彦芳, 马玉奎, 等. 新药非临床安全药理学研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2019, 33(12):1013-1025. DOI:10.3867/j.issn.1000-3002.2019.12.001.
- [7] 刘美, 田心. 《药物安全药理学研究技术指导原则》和《药物 QT 间期延长潜在作用非临床研究技术指导原则》与 ICH S7A/S7B 的对比研究及实施建议[J]. 现代药物与临床, 2018, 33(10):2745-2748. DOI:10.7501/j.issn.1674-5515.2018.10.061.
- [8] 李君实, 吴泽芳, 张家碧, 等. 引流熊胆与熊胆药理作用比较的研究[J]. 中国中药杂志, 1991, 16(12):749-752, 764.
- [9] 吴明寿, 吴铁, 陈志东, 等. 吴川县人工引流熊胆粉及天然熊胆粉药理作用比较[J]. 中药材, 1995, 18(7):359-361. DOI:10.13863/j.issn1001-4454.1995.07.018.
- [10] 王亮, 张凤, 陈万生. 痰热清注射液不良事件文献分析[J]. 中国药房, 2019, 30(5):694-697. DOI:10.6039/j.issn.1001-0408.2019.05.24
- [11] 梅娜, 王景红, 张婧, 等. 141 例痰热清注射液不良反应分析[J]. 中日友好医院学报, 2017, 31(4):236-238. DOI: 10.3969/j.issn.1001-0025.2017.04.011.
- [12] 张敏, 金剑. 痰热清注射液不良反应文献分析[J]. 临床合理用药杂志, 2019, 12(10):13-15. DOI:10.15887/j.cnki.13-1389/r.2019.10.006.
- (收稿日期: 2020-06-02 修回日期: 2020-11-26)

(上接第32页)

- [12] SHIMODA L A, SHAM J S, SHIMODA T H, et al. L-type Ca^{2+} channels, resting $[\text{Ca}^{2+}]_i$, and ET-1-induced responses in chronically hypoxic pulmonary myocytes[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2000, 279(5):L884-894. DOI:10.1152/ajplung. 2000.279.5.L884.
- [13] 朱增民. 红细胞压积对全血黏度关系的影响研究[J]. 当代医学, 2011, 17(29):20-21. DOI:10.3969/j.issn.1009-4393.2011.29.011.
- [14] 陈泳华, 曾军, 刘春丽, 等. COPD 合并肺动脉高压疾病危险因素分析[J]. 广州医药, 2018, 49(5):74-77. DOI:10.3969/j. issn.1000-8535.2018.05.018.
- [15] 杜发茂, 刘娟丽, 高芬. 肺动脉高压大鼠重返平原血红蛋白、平均肺动脉压的变化[J]. 中国医药导报, 2012, 9(30):21-26. DOI:1673-7210(2012)10(c)-0021-03.
- [16] KASPERSKA A, ZEMBRON-LACNY A. The effect of intermittent hypoxic exposure on erythropoietic response and hematological variables in elite athletes[J]. Physiol Res, 2020, 69(2):283-290. DOI:10.33549/physiolres. 934316.
- [17] ARIAS S J, SALDANA M. The terminal portion of the pulmonary arterial tree in people native to high altitudes [J]. Circ, 1963, 28(5):915-925. DOI: 10.1161/01.cir.28.5. 915.
- (收稿日期: 2020-06-16 修回日期: 2020-11-09)