

中图分类号: R965; R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2025)02-0056-07  
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2025.02.012



## 双黄连口服液长期毒性实验研究

其木格<sup>1</sup>, 李更生<sup>2</sup>, 郭中华<sup>1</sup>, 苏风山<sup>1</sup>, 张立壮<sup>1</sup>, 王晓冰<sup>1</sup>

(1. 河南太龙药业股份有限公司, 河南 郑州 450001; 2. 河南省中医药研究院, 河南 郑州 450003)

**摘要:**目的 探讨双黄连口服液对大鼠的长期毒性。方法 将120只SD大鼠随机分为对照组(等体积溶剂)和双黄连口服液低、中、高剂量组(10, 20, 40 mL/kg), 各30只。各组大鼠灌胃相应药物或溶剂(20 mL/kg), 每天2次, 连续13周, 恢复期4周。检测大鼠一般生理指标、临床病理学指标及组织病理学指标。结果 一般生理指标, 对照组和各给药组大鼠给药期和恢复期笼旁观察均未见与供试品相关的异常反应, 各给药组大鼠体质量与同期对照组比较无显著差异( $P > 0.05$ ), 各给药组大鼠摄食量未见有毒理学意义的改变。临床病理学指标, 给药结束和恢复期结束, 各给药组大鼠血液学、血清生化、凝血和尿液指标未见有毒理学意义的异常改变。组织病理学指标, 给药结束, 雄性大鼠中、高剂量组肾脏质量、高剂量组肝脏和肾脏系数显著高于对照组( $P < 0.05$ 或 $0.01$ ), 可能与供试品相关; 组织病理学检查仅发现高剂量组2只雄性大鼠肝细胞轻微肥大, 肾脏未见明显异常。结论 大鼠连续13周灌胃双黄连口服液, 未见明显毒性反应, 恢复期结束未见延迟或蓄积性毒性反应, 研究中未见明显毒性反应的剂量为40 mL/kg, 是临床等效剂量的7.5倍, 其临床用药量为安全剂量。

**关键词:** 双黄连口服液; 重复给药; 长期毒性实验; 大鼠

### Study of Long - Term Toxicity of Shuanghuanglian Oral Liquid

Qimuge<sup>1</sup>, Li Gengsheng<sup>2</sup>, Guo Zhonghua<sup>1</sup>, Su Fengshan<sup>1</sup>, Zhang Lizhuang<sup>1</sup>, Wang Xiaobing<sup>1</sup>

(1. Henan Taloph Pharmaceutical Co., Ltd., Zhengzhou, Henan, China 450001; 2. Henan Institute of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou, Henan, China 450003)

**Abstract: Objective** To investigate the long - term toxicity of Shuanghuanglian Oral Liquid in rats. **Methods** A total of 120 SD rats were randomly divided into the control group (equal volume of solvent), low -, medium -, and high - dose Shuanghuanglian Oral Liquid groups (10, 20, 40 mL / kg), with 30 rats in each group. The rats were given corresponding drugs or solvents (20 mL / kg) by gavage twice a day for 13 weeks, with a recovery period of four weeks. The general physiological indicators, clinical pathological indicators and histopathological indicators of rats were detected. **Results** In terms of general physiological indicators, no abnormal reaction related to the test substance was observed in the cage of rats in the control group and drug groups during the administration and recovery periods; there was no significant difference in body mass of rats in the drug groups and control group during the same periods ( $P > 0.05$ ); and no toxicological change was observed in the food intake of rats in drug groups. In terms of clinical pathological indicators, no toxicologically abnormal change was observed in hematology, serum biochemistry, coagulation and urine indicators of rats in each drug group at the end of administration and recovery period. In terms of histopathological indicators, the kidney mass of male rats in the medium - and high - dose groups, liver and kidney coefficients of male rats in the high - dose group were significantly higher than those in the control group at the end of administration ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ), possibly related to the test substance; only mild hypertrophy of liver cells in two male rats in the high - dose group was observed through the histopathological examination, and no obvious abnormality was observed in the kidneys. **Conclusion** No obvious toxic reaction was observed after 13 weeks of continuous gavage of Shuanghuanglian Oral Liquid in rats, and no delayed or accumulated toxic reaction was observed at the end of the recovery period; the no observed adverse effect level (NOAEL) in this study was 40 mL / kg, which was 7.5 times the clinical equivalent dose, indicating that the clinical dosage is a safe dose.

**Key words:** Shuanghuanglian Oral Liquid; repeated administration; long - term toxicity experiment; rat

双黄连方剂由清代《温病条辨》中银翘散药方化裁而来<sup>[1]</sup>。双黄连口服液是在此基础上开发的现代中药制剂, 由金银花(又名双花)、黄芩、连翘组方, 有疏风解表、清热解暑功效, 多用于治疗外感风热所致感冒。该制剂具有广谱抗病毒(甲流<sup>[2]</sup>、禽流感<sup>[3]</sup>等流行性感病毒; 新型冠状病毒<sup>[4]</sup>; 呼吸道合胞病毒<sup>[5]</sup>等)、抑

菌<sup>[6-7]</sup>、解热抗炎<sup>[8-9]</sup>、提高机体免疫力的作用, 疗效确切, 主要用于治疗细菌或病毒引起的上呼吸道感染, 且随着临床研究的不断深入, 其临床应用范围也不断扩大, 已不局限于治疗呼吸系统疾病, 也与其他药物联合应用于小儿扁桃体炎<sup>[10-11]</sup>、小儿疱疹性咽峡炎<sup>[12-13]</sup>、口腔溃疡<sup>[14-16]</sup>等的治疗。但目前, 双黄连口服液药理学

第一作者: 其木格, 女, 蒙古族, 大学本科, 工程师, 研究方向为中药新产品开发, (电子信箱)Qmg@taloph.com。

研究多集中在探讨其抗菌、抗病毒、解热抗炎的药效及作用机制,关于其毒性研究<sup>[17-18]</sup>较少,为进一步探讨其安全性,本研究中连续13周灌胃大鼠双黄连口服液,观察其可能出现的毒性反应,以评价制剂的安全性,以期为其临床安全用药提供可靠的实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

仪器:BSA2201-CW型电子天平(德国Sartorius公司);MEK-7222K型全自动五分类血液分析仪(日本光电工业株式会社);CX23型显微镜(日本Olympus公司);Coatron1800型全自动血凝仪(德国TECO公司);AU480型全自动生化分析仪(德国Beckman Coulter公司);CombiScan500型尿分析仪(德国Kobold公司)。

试药:双黄连口服液(河南太龙药业股份有限公司,批号为170222012,每1 mL相当于饮片1.5 g);水为纯化水。

动物:SPF级SD大鼠120只,雌雄各半,6~7周龄,雌鼠体质量132~157 g,雄鼠体质量155~176 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司[实验动物生产许可证号SCXK(京)-2016-0011]。饲养环境为,室温20~26℃,相对湿度40%~70%,最小换气频率为15次/h,明暗交替12 h。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 分组及给药

120只SD大鼠,设对照组(等体积纯化水)和双黄连口服液低、中、高剂量组(10,20,40 mL/kg),每组雌、雄各15只。灌胃相应药物或纯化水(20 mg/kg),每天2次,连续13周,恢复期4周。双黄连口服液临床用量为1次20 mL,1天3次,成人体质量以70 kg计算,则大鼠等效剂量为5.3 mL/kg。各组大鼠连续编号(1-30,31-60,61-90,91-120)。

#### 1.2.2 指标观察<sup>[28-32]</sup>

一般生理指标:每天笼旁观察至少1次、每周测定体质量、摄食量各1次。

临床病理学检查:在给药结束和恢复期结束时采血,检测血液学指标、凝血指标、血清生化指标。

尿液指标:在给药结束和恢复期结束时以代谢笼采尿,检测尿液指标。

组织病理学检查:腹腔注射2.0%戊巴比妥钠(30~50 mg/kg)进行麻醉,腹主动脉放血处死。肉眼检查组织器官有无异常,称定心脏、脑、肺脏、肾脏、肝脏等器官质量,并计算脏器系数(脏器质量/体质量);用福尔马林溶液固定保存心脏、脑、肾脏、肝脏、骨骼肌、皮肤等组织器官,取材修块、逐级脱水、包埋、切片(厚

3~5 μm)、经苏木素-伊红(HE)染色,光镜下检查。

骨髓指标:若血液学指标或组织病理学检查提示有骨髓毒性,再以骨髓片进行骨髓细胞分类计数。

### 1.3 统计学处理

采用SPSS 20.0统计学软件分析。正态分布的计量资料行Levene方差齐性检验,非正态分布行Kruskal-Wallis检验;方差齐性行Kruskal-Wallis检验,反之行单因素方差分析(One-Way ANOVA);方差分析检验结果显著( $P \leq 0.05$ ),进一步行Dunnett *t*检验;反之则统计结束。Kruskal-Wallis检验结果显著( $P \leq 0.05$ ),则进一步行Mann-Whitney检验;反之则统计结束。等级资料行Kruskal-Wallis检验,结果显著( $P \leq 0.05$ ),进一步行Mann-Whitney检验;反之则统计结束。

## 2 结果

### 2.1 一般生理指标

笼旁观察:对照组和双黄连口服液各剂量组大鼠给药期和恢复期均未见与供试品相关的异常反应。低剂量组No. 60、46、45大鼠,分别于 $d_{82}$ 、 $d_{86}$ 、 $d_{87}$ 死亡。其中No. 60大鼠给药后5 min死亡,No. 46大鼠死亡前2天出现俯卧、自发活动减少、鼻分泌物等症状,No. 45大鼠给药后出现抽搐、俯卧症状,随后死亡。由于死亡动物仅发生在低剂量组,且大多于给药后短时间内死亡,组织病理学检查亦未见明显致死性病变,考虑动物死亡为给药操作失误所致,与供试品无关。

体质量:双黄连口服液各剂量组大鼠体质量与同期对照组比较未见显著差异( $P > 0.05$ )。

摄食量:给药期,双黄连口服液各剂量组大鼠摄食量普遍低于同期对照组,高剂量组降低较明显,特别是雄性大鼠。摄食量的降低未影响动物体质量的生长,可认为无毒理学意义。恢复期,双黄连口服液各剂量组大鼠摄食量与同期对照组比较未见明显变化。

### 2.2 临床病理学指标

血液学指标:给药结束时,双黄连口服液各剂量组各项血液学指标与对照组比较无显著差异( $P > 0.05$ )。低、高剂量组雄性大鼠红细胞平均体积(MCV)显著高于对照组( $P < 0.01$ )但无剂量效应关系;中、高剂量组大鼠平均血红蛋白浓度(MCHC)显著低于对照组( $P \leq 0.05$ ),红细胞计数(RBC)和血红蛋白(Hb)等指标未见明显异常,故考虑MCHC的降低可能与摄食量降低导致血红蛋白合成减少有关,与供试品本身的毒性无关。恢复期各剂量组大鼠各项血液学指标与对照组无显著差异( $P > 0.05$ )。详见表1(0 mL/kg即为对照组,未提及指标中,HCT为红细胞压积,MCH为平均红细胞血红蛋白含量,RDW为红细胞分布宽度,PLT为血小板计

表1 大鼠血液学指标( $\bar{X} \pm s$ )  
Tab.1 Hematological indicators of rats ( $\bar{X} \pm s$ )

时期	检测指标	雌性剂量(mL/kg)				雄性剂量(mL/kg)			
		0	10	20	40	0	10	20	40
给药结束 (n=10)	WBC( $\times 10^9/L$ )	1.10±0.40	1.40±0.50	1.80±0.90	1.10±0.30	5.90±1.90	4.70±1.90	7.30±2.90	5.70±0.80
	RBC( $\times 10^{12}/L$ )	6.29±0.41	6.20±0.57	6.22±0.40	6.14±0.33	7.63±0.65	7.40±0.54	8.03±0.78	7.48±0.50
	Hb(g/L)	135.00±5.00	134.00±6.00	134.00±10.00	129.00±6.00	151.00±8.00	150.00±7.00	154.00±8.00	146.00±9.00
	HCT(%)	33.60±2.00	32.80±2.60	33.20±2.00	32.60±1.10	37.70±4.00	37.90±2.50	40.60±3.30	38.60±2.40
	MCV(fL)	53.50±1.00	53.00±2.00	53.40±1.20	53.20±2.30	49.30±1.30	51.30±1.50*	50.70±1.70	51.70±0.80*
	MCH(pg)	21.50±0.80	21.70±1.50	21.50±1.50	21.00±1.20	19.90±1.10	20.40±0.70	19.30±1.60	19.50±0.50
	MCHC(g/L)	402.00±14.00	410.00±22.00	402.00±20.00	395.00±11.00	403.00±25.00	397.00±17.00	381.00±22.00*	378.00±7.00*
	RDW(%)	11.40±0.40	11.50±0.20	11.60±0.50	11.30±0.40	11.90±0.40	12.00±0.20	11.60±0.20	11.60±0.30
	PLT( $\times 10^9/L$ )	446.00±67.00	509.00±66.00	531.00±67.00	514.00±80.00	575.00±90.00	532.00±61.00	587.00±78.00	511.00±65.00
	PCT(%)	0.32±0.06	0.36±0.05	0.38±0.07	0.36±0.07	0.41±0.07	0.37±0.05	0.41±0.06	0.36±0.05
	MPV(fL)	7.00±0.30	7.00±0.40	7.20±0.40	7.00±0.30	7.20±0.40	6.90±0.30	7.00±0.10	7.00±0.20
	PDW(%)	12.40±0.50	12.50±0.50	12.80±0.50	12.40±0.40	12.60±0.60	12.10±0.30	12.50±0.40	12.50±0.50
	LYM(%)	77.70±7.60	78.60±7.70	77.10±6.80	75.70±5.30	82.10±7.00	84.30±2.80	82.10±8.20	81.80±9.30
	MONO(%)	0.35±0.75	0.21±0.45	0.39±0.67	0.22±0.47	0.30±0.52	0.10±0.13	0.09±0.14	0.11±0.12
	NEUT(%)	18.40±8.40	17.60±7.80	19.00±6.60	19.70±4.80	15.90±7.20	14.10±2.80	15.40±8.50	16.20±8.70
	EOS(%)	3.60±1.90	3.60±1.70	3.50±1.50	4.40±2.30	1.70±0.90	1.50±0.90	2.40±1.40	1.90±1.20
	BAS(%)	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.09±0.14	0.00±0.00	0.01±0.03	0.08±0.19
Reti(‰)	13.30±1.20	14.00±0.80	14.30±1.00	14.10±0.90	13.30±1.20	13.20±1.10	13.20±1.00	14.30±0.70	
恢复期 结束 (n=5)	WBC( $\times 10^9/L$ )	1.60±0.80	1.40±0.50	1.60±0.30	0.80±0.20	4.90±1.00	4.50±2.20	4.70±2.90	4.30±1.20
	RBC( $\times 10^{12}/L$ )	6.80±1.03	6.53±0.55	6.83±0.69	6.92±0.36	7.64±0.55	7.71±0.37	7.55±0.59	8.29±0.80
	Hb(g/L)	141.00±12.00	137.00±7.00	136.00±9.00	138.00±6.00	145.00±5.00	141.00±7.00	144.00±8.00	152.00±5.00
	HCT(%)	36.70±4.70	35.70±2.50	36.30±2.40	37.10±1.90	38.90±2.10	37.70±3.10	38.00±2.30	42.30±4.20
	MCV(fL)	54.20±2.50	54.70±1.00	53.30±2.50	53.60±1.80	50.90±1.70	48.80±1.80	50.30±1.60	51.00±1.60
	MCH(pg)	20.80±1.40	21.00±0.80	20.00±1.00	20.00±0.70	19.00±1.30	18.30±0.30	19.10±1.10	18.40±1.30
	MCHC(g/L)	384.00±15.00	385.00±10.00	376.00±12.00	373.00±5.00	373.00±16.00	375.00±11.00	380.00±12.00	361.00±25.00
	RDW(%)	11.40±0.20	11.10±0.30	11.20±0.30	11.10±0.30	11.80±0.10	11.90±0.20	11.70±0.30	11.60±0.10
	PLT( $\times 10^9/L$ )	509.00±64.00	517.00±31.00	537.00±94.00	537.00±111.00	647.00±93.00	542.00±66.00	601.00±109.00	638.00±108.00
	PCT(%)	0.36±0.05	0.37±0.04	0.39±0.08	0.39±0.09	0.46±0.08	0.38±0.06	0.43±0.10	0.47±0.11
	MPV(fL)	7.10±0.30	7.20±0.30	7.20±0.30	7.30±0.30	7.10±0.40	6.90±0.30	7.00±0.30	7.30±0.50
	PDW(%)	12.60±0.50	12.60±0.80	12.60±0.70	12.70±0.30	12.60±0.70	12.40±0.20	12.50±0.30	12.80±0.30
	LYM(%)	85.00±4.50	86.80±4.80	89.10±3.40	89.10±5.00	87.30±2.60	86.00±2.70	84.30±4.60	88.20±3.30
	MONO(%)	0.36±0.80	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.80±1.31	0.28±0.55	0.18±0.20	0.16±0.23
	NEUT(%)	9.00±3.60	8.50±3.10	7.00±1.50	7.90±2.30	9.00±2.80	10.70±1.40	11.70±3.50	8.80±2.70
	EOS(%)	5.70±4.20	4.80±1.70	3.90±2.20	3.00±4.00	2.90±2.30	3.10±1.80	3.80±1.50	2.80±0.70
	BAS(%)	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Reti(‰)	12.80±0.80	13.50±1.70	12.20±0.80	13.40±1.10	12.40±1.10	13.50±1.30	12.60±1.50	12.20±0.80	

注:中剂量组No. 66动物指标异常,未计入统计,故给药结束和恢复期结束时n分别为9和4。下表同。

Note: Indicators of the rat No. 66 in medium - dose group are abnormal and not included, so n was nine and four at the end of administration and recovery period, respectively (for Tab. 1 - 7).

数,PCT为降钙素原,MPV为血小板平均容积,PDW为血小板体积分布宽度,LYM是淋巴细胞,MONO为单核细胞,NEUT为中性粒细胞,EOS为嗜酸性粒细胞,BAS为嗜碱性粒细胞,Reti为网织红细胞)。

血清生化指标:详见表2。给药结束时双黄连口服液中、高剂量组雌性大鼠氯离子(Cl<sup>-</sup>)显著低于对照组,但钾离子(K<sup>+</sup>)、钠离子(Na<sup>+</sup>)、钙离子(Ca<sup>2+</sup>)未见显著变化,且单纯的Cl<sup>-</sup>降低无毒理学意义。与对照组

表2 大鼠血清生化指标( $\bar{X} \pm s$ )  
Tab. 2 Serum biochemical indicators of rats ( $\bar{X} \pm s$ )

时期	检测指标	雌性剂量(mL/kg)				雄性剂量(mL/kg)			
		0	10	20	40	0	10	20	40
给药结束 (n=10)	ALT(U/L)	38.00±27.00	31.00±7.00	27.00±4.00	28.00±6.00	41.00±9.00	34.00±7.00	36.00±5.00	31.00±5.00 <sup>*</sup>
	AST(U/L)	101.00±52.00	87.00±18.00	87.00±25.00	92.00±23.00	108.00±11.00	98.00±19.00	121.00±33.00	95.00±17.00
	TP(g/L)	69.00±6.20	71.90±5.40	71.20±3.40	69.80±3.50	59.50±1.50	58.00±2.90	59.40±2.00	57.00±3.10
	ALB(g/L)	29.10±3.20	30.80±2.70	30.10±1.60	30.90±2.20	22.10±0.80	21.50±1.30	22.20±1.00	22.20±0.80
	GLB(g/L)	39.90±3.50	41.10±3.20	41.10±2.00	38.90±1.70	37.40±1.50	36.50±2.10	37.20±1.90	34.90±2.80 <sup>*</sup>
	A/G	0.68±0.08	0.72±0.08	0.70±0.00	0.73±0.05	0.56±0.05	0.56±0.05	0.56±0.05	0.59±0.07
	TBiL(μmol/L)	3.16±0.58	2.94±0.40	2.97±0.28	3.13±0.39	2.51±0.33	2.47±0.23	2.47±0.30	3.05±0.23 <sup>**</sup>
	ALP(U/L)	31.00±5.00	29.00±8.00	26.00±5.00	28.00±7.00	85.00±17.00	88.00±24.00	85.00±12.00	85.00±23.00
	LDH(U/L)	757.00±234.00	827.00±309.00	900.00±523.00	1078.00±293.00	992.00±316.00	897.00±278.00	1282.00±430.00	1151.00±392.00
	CK(U/L)	375.00±123.00	440.00±153.00	512.00±301.00	563.00±182.00	562.00±194.00	531.00±168.00	807.00±352.00	572.00±178.00
	GLU(mmol/L)	6.93±0.64	6.74±0.65	6.50±0.50	6.34±0.34	8.10±0.70	8.03±1.32	7.93±1.04	7.68±1.23
	UREA(mmol/L)	5.91±1.01	5.15±0.77	6.62±1.12	5.01±0.89	5.72±0.63	6.19±0.66	5.84±1.05	4.33±0.51 <sup>**</sup>
	UA(μmol/L)	38.60±9.90	43.00±10.40	47.50±11.80	43.10±14.40	58.10±12.60	64.40±15.20	60.10±9.50	43.30±8.60 <sup>*</sup>
	CREA(μmol/L)	42.40±4.40	41.70±2.70	44.90±5.70	41.90±1.70	42.30±2.70	39.80±3.80	39.20±2.40	39.10±4.40
	TC(mmol/L)	2.08±0.57	1.86±0.52	1.91±0.40	1.98±0.44	1.42±0.43	1.46±0.24	1.24±0.16	1.00±0.22 <sup>**</sup>
	TG(mmol/L)	0.45±0.11	0.42±0.13	0.68±0.34	0.49±0.20	0.43±0.13	0.53±0.16	0.74±0.26 <sup>**</sup>	0.91±0.25 <sup>**</sup>
	K <sup>+</sup> (mmol/L)	4.02±0.19	4.15±0.31	4.12±0.16	4.14±0.22	4.55±0.22	4.54±0.23	4.64±0.28	4.49±0.22
	Na <sup>+</sup> (mmol/L)	143.80±1.20	144.00±1.80	142.90±1.40	142.60±2.00	144.00±1.30	143.70±1.70	143.50±1.80	143.80±1.30
	Cl <sup>-</sup> (mmol/L)	106.80±1.00	106.70±1.40	105.10±1.60 <sup>*</sup>	104.70±1.70 <sup>**</sup>	105.80±1.60	106.40±2.10	104.90±1.50	106.10±1.50
Ca <sup>2+</sup> (mmol/L)	2.28±0.10	2.36±0.06	2.37±0.07	2.33±0.06	2.16±0.07	2.18±0.04	2.16±0.04	2.13±0.04	
恢复期 结束 (n=5)	ALT(U/L)	48.00±26.00	42.00±11.00	41.00±17.00	39.00±17.00	41.00±6.00	31.00±3.00	36.00±2.00	34.00±10.00
	AST(U/L)	141.00±61.00	115.00±20.00	111.00±30.00	124.00±33.00	148.00±22.00	116.00±28.00	130.00±31.00	106.00±10.00
	TP(g/L)	68.70±1.80	70.00±5.20	73.60±1.50	72.10±4.50	58.30±3.50	58.40±0.60	58.60±3.10	58.80±2.30
	ALB(g/L)	31.30±1.00	31.10±2.40	32.30±1.70	31.10±2.20	21.70±0.60	22.00±0.60	21.90±1.40	22.40±1.10
	GLB(g/L)	37.50±1.50	38.90±3.00	41.30±1.40 <sup>*</sup>	41.00±2.40 <sup>*</sup>	36.60±3.30	36.50±1.00	36.70±2.40	36.40±1.30
	A/G	0.78±0.04	0.75±0.06	0.76±0.05	0.72±0.04	0.54±0.05	0.55±0.06	0.54±0.05	0.58±0.04
	TBiL(μmol/L)	2.26±0.31	2.27±0.43	2.51±0.29	2.57±0.46	2.15±0.58	2.27±0.17	2.30±0.44	1.75±0.17
	ALP(U/L)	29.00±6.00	34.00±6.00	30.00±12.00	36.00±9.00	100.00±20.00	66.00±10.00 <sup>**</sup>	78.00±10.00 <sup>*</sup>	79.00±8.00
	LDH(U/L)	1120.00±98.00	845.00±295.00	1019.00±160.00	1030.00±138.00	1614.00±252.00	1343.00±454.00	1405.00±445.00	1072.00±255.00
	CK(U/L)	571.00±81.00	428.00±195.00	502.00±68.00	554.00±125.00	918.00±183.00	628.00±240.00	846.00±213.00	764.00±402.00
	GLU(mmol/L)	5.35±0.37	5.70±0.60	5.54±0.42	7.05±0.71 <sup>**</sup>	7.05±0.68	7.90±0.67	7.56±0.82	8.93±3.54
	UREA(mmol/L)	5.84±0.59	5.43±0.76	5.89±0.56	5.90±0.46	5.24±0.59	5.54±0.18	5.86±1.01	5.74±0.60
	UA(μmol/L)	33.40±8.40	35.70±10.70	32.00±6.20	41.90±13.40	54.90±3.60	61.30±6.20	66.40±23.20	75.80±35.70
CREA(μmol/L)	46.90±5.70	45.10±1.80	44.40±1.90	49.70±4.40	40.80±4.60	43.40±1.50	47.60±7.40	45.00±4.60	
TC(mmol/L)	1.75±0.32	1.86±0.53	2.44±0.72	2.28±0.45	1.64±0.35	1.67±0.26	1.56±0.33	1.54±0.35	
TG(mmol/L)	0.69±0.30	0.72±0.91	0.50±0.24	0.54±0.16	0.64±0.27	0.58±0.41	0.55±0.16	0.71±0.25	
K <sup>+</sup> (mmol/L)	4.37±0.14	4.31±0.04	4.54±0.20	4.13±0.17	4.73±0.18	4.39±0.08 <sup>**</sup>	4.59±0.10	4.69±0.21	
Na <sup>+</sup> (mmol/L)	143.20±1.30	143.00±1.40	143.40±0.50	143.80±1.10	144.60±0.90	144.80±0.50	144.20±0.80	143.00±2.10	
Cl <sup>-</sup> (mmol/L)	105.00±1.40	104.80±1.50	104.60±1.10	105.60±1.50	103.80±1.60	104.00±0.80	103.80±1.30	104.20±1.30	
Ca <sup>2+</sup> (mmol/L)	2.30±0.04	2.34±0.10	2.34±0.05	2.28±0.05	2.12±0.02	2.15±0.02	2.14±0.05	2.17±0.09	

比较,中剂量组雄性大鼠甘油三酯(TG)水平升高,高剂量组总胆红素(TBiL)和TG水平升高,丙氨酸氨基转移酶(ALT)、球蛋白(GLB)、尿素(UREA)、尿酸(UA)、总

胆固醇(TC)降低( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。雄性大鼠的TG升高可能与摄入较多糖类物质有关;TBiL和GLB波动值较小。恢复期结束,与对照组比较,中、高剂量组雌

表3 大鼠凝血指标( $\bar{X} \pm s, s$ )

Tab. 3 Coagulation indicators of rats ( $\bar{X} \pm s$ )

时期	检测指标	雌性剂量(mL/kg)				雄性剂量(mL/kg)			
		0	10	20	40	0	10	20	40
给药结束 (n=10)	PT	17.60±0.60	17.30±0.50	18.00±2.10	17.50±0.60	18.10±1.00	17.50±0.60	17.40±0.60	18.10±0.60
	APTT	15.00±1.40	15.80±0.50	16.00±3.60	15.80±1.00	15.60±1.50	15.50±0.90	15.70±1.00	15.90±0.90
恢复期结束 (n=5)	PT	16.20±0.30	16.20±1.40	15.50±0.80	15.80±0.30	19.00±1.00	18.40±0.20	17.60±1.30	18.60±1.70
	APTT	14.00±0.40	13.90±0.80	13.90±1.00	14.00±0.70	14.10±0.90	14.20±0.70	13.50±0.40	13.60±1.10

性大鼠GLB升高显著( $P < 0.05$ ),高剂量组葡萄糖(GLU)升高( $P \leq 0.01$ )。低、中剂量组雄性大鼠碱性磷酸酶(ALP)及低剂量组 $K^+$ 降低( $P \leq 0.05$ 或 $0.01$ )。GLB和GLU和 $K^+$ 的改变无剂量效应关系,无毒理学意义;ALP降低时无毒理学意义(表2中未提及指标中,AST为天门冬氨酸氨基转移酶,TP为总蛋白,ALB为白蛋白,A/G为白蛋白与球蛋白之比,LDH为乳酸脱氢酶,CK为肌酸激酶,CREA为肌酐)。

凝血指标:详见表3。给药结束及恢复期结束,双黄连口服液各剂量组大鼠凝血酶原时间(PT)和活化部分凝血活酶时间(APTT)与对照组比较无显著差异( $P > 0.05$ )。

表4 给药结束时雌性大鼠脏器质量和脏器系数( $\bar{X} \pm s, n = 10$ )

Tab. 4 Organ mass and organ coefficient of female rats at the end of administration ( $\bar{X} \pm s, n = 10$ )

指标	剂量(mL/kg)				
	0	10	20	40	
体质量(g)	298±34	296±28	299±26	294±31	
脏器质量(g)	心脏	1.001±0.114	1.015±0.078	1.050±0.139	1.054±0.103
	肝脏	7.772±1.343	8.163±1.152	8.457±0.810	8.201±1.375
	脾脏	0.620±0.107	0.560±0.073	0.572±0.081	0.579±0.122
	肺脏	1.312±0.199	1.217±0.091	1.249±0.126	1.188±0.127
	肾脏	1.942±0.240	2.026±0.185	2.048±0.264	2.037±0.201
	肾上腺	0.062±0.015	0.064±0.010	0.065±0.020	0.060±0.010
	胸腺	0.305±0.061	0.290±0.079	0.339±0.083	0.298±0.067
	脑	1.989±0.057	1.947±0.045	1.844±0.108 <sup>**</sup>	1.928±0.104
	卵巢	0.134±0.034	0.123±0.036	0.126±0.025	0.123±0.024
	子宫	0.686±0.288	0.659±0.159	0.708±0.188	0.682±0.201
脏器系数(%)	心脏	0.338±0.034	0.344±0.029	0.352±0.037	0.361±0.038
	肝脏	2.602±0.227	2.756±0.286	2.837±0.192	2.779±0.238
	脾脏	0.211±0.046	0.190±0.026	0.191±0.015	0.197±0.039
	肺脏	0.441±0.036	0.413±0.038	0.419±0.036	0.406±0.043
	肾脏	0.654±0.055	0.688±0.072	0.678±0.084	0.694±0.036
	肾上腺	0.021±0.005	0.022±0.002	0.022±0.006	0.021±0.005
	胸腺	0.103±0.021	0.097±0.021	0.114±0.026	0.101±0.020
	脑	0.674±0.062	0.662±0.062	0.621±0.051	0.661±0.067
	卵巢	0.045±0.007	0.041±0.012	0.042±0.007	0.042±0.008
	子宫	0.234±0.105	0.224±0.056	0.239±0.065	0.233±0.068

骨髓指标:血液学指标和组织病理学检查均未提示有骨髓毒性,故未进行骨髓细胞分类计数。

尿液指标:给药结束时高剂量组雄性大鼠尿蛋白(PRO)显著低于对照组( $P < 0.05$ ),该指标降低无毒理学意义。

恢复期结束时各剂量组大鼠尿液指标与对照组比较无显著差异( $P > 0.05$ )。

### 2.3 组织病理学检查

脏器质量和脏器系数:详见表4至表7。给药结束时与对照组比较,双黄连口服液中剂量组雌性大鼠脑质量显著减少( $P < 0.01$ ),但无量效关系,故与供试品无相关性。中、高剂量组雄性大鼠肾脏质量、高剂量组肝

表5 给药结束时雄性大鼠脏器质量和脏器系数( $\bar{X} \pm s, n = 10$ )

Tab. 5 Organ mass and organ coefficient of male rats at the end of administration ( $\bar{X} \pm s, n = 10$ )

指标	剂量(mL/kg)				
	0	10	20	40	
体质量(g)	539±78	537±62	566±75	558±55	
脏器质量(g)	心脏	1.822±0.655	1.616±0.232	1.724±0.220	1.577±0.148
	肝脏	13.299±2.019	13.626±1.972	15.379±2.980	15.339±2.028
	脾脏	0.845±0.208	0.805±0.140	0.804±0.097	0.774±0.134
	肺脏	1.865±0.295	1.772±0.266	1.854±0.230	1.817±0.200
	肾脏	3.122±0.357	3.518±0.475	3.665±0.314 <sup>*</sup>	3.694±0.456 <sup>**</sup>
	肾上腺	0.052±0.010	0.050±0.006	0.051±0.008	0.050±0.008
	胸腺	0.388±0.102	0.331±0.094	0.362±0.099	0.373±0.078
	脑	2.161±0.101	2.140±0.106	2.162±0.142	2.111±0.111
	睾丸	3.398±0.285	3.570±0.325	3.594±0.234	3.496±0.335
	附睾	1.446±0.161	1.510±0.151	1.481±0.153	1.443±0.174
脏器系数(%)	心脏	0.346±0.144	0.302±0.027	0.306±0.030	0.284±0.024
	肝脏	2.470±0.149	2.535±0.135	2.702±0.286	2.748±0.253 <sup>*</sup>
	脾脏	0.156±0.023	0.150±0.016	0.143±0.017	0.139±0.019
	肺脏	0.347±0.026	0.333±0.055	0.329±0.033	0.326±0.029
	肾脏	0.584±0.057	0.659±0.086	0.652±0.052	0.664±0.074 <sup>*</sup>
	肾上腺	0.010±0.002	0.009±0.002	0.009±0.001	0.009±0.001
	胸腺	0.072±0.016	0.061±0.014	0.064±0.013	0.067±0.012
	脑	0.407±0.052	0.403±0.048	0.386±0.038	0.380±0.031
	睾丸	0.637±0.064	0.673±0.093	0.643±0.077	0.629±0.051
	附睾	0.272±0.040	0.286±0.049	0.266±0.044	0.259±0.025

表6 恢复期结束时雌性大鼠脏器质量和脏器系数( $\bar{X} \pm s, n = 5$ )

Tab. 6 Organ mass and organ coefficient of female rats at the end of the recovery period ( $\bar{X} \pm s, n = 5$ )

指标	剂量(mL/kg)				
	0	10	20	40	
体质量(g)	306 ± 15	307 ± 28	312 ± 28	322 ± 36	
脏器质量(g)	心脏	1.009 ± 0.107	1.109 ± 0.090	1.134 ± 0.137	1.242 ± 0.201
	肝脏	8.025 ± 1.102	8.090 ± 1.170	9.047 ± 1.553	8.400 ± 0.775
	脾脏	0.549 ± 0.095	0.579 ± 0.064	0.623 ± 0.125	0.537 ± 0.035
	肺脏	1.345 ± 0.148	1.287 ± 0.111	1.338 ± 0.148	1.272 ± 0.075
	肾脏	1.871 ± 0.137	2.039 ± 0.140	2.249 ± 0.181 <sup>**</sup>	2.111 ± 0.178
	肾上腺	0.070 ± 0.024	0.070 ± 0.003	0.082 ± 0.030	0.072 ± 0.016
	胸腺	0.320 ± 0.122	0.259 ± 0.068	0.327 ± 0.031	0.300 ± 0.118
	脑	2.021 ± 0.041	1.961 ± 0.065	1.996 ± 0.061	1.984 ± 0.068
	卵巢	0.146 ± 0.022	0.125 ± 0.020	0.144 ± 0.032	0.132 ± 0.033
	子宫	0.591 ± 0.090	0.708 ± 0.100	0.788 ± 0.139	0.731 ± 0.109
脏器系数(%)	心脏	0.330 ± 0.029	0.363 ± 0.031	0.364 ± 0.018	0.388 ± 0.062
	肝脏	2.620 ± 0.288	2.640 ± 0.304	2.891 ± 0.267	2.622 ± 0.228
	脾脏	0.179 ± 0.026	0.188 ± 0.004	0.199 ± 0.028	0.168 ± 0.014
	肺脏	0.439 ± 0.030	0.421 ± 0.039	0.430 ± 0.042	0.398 ± 0.034
	肾脏	0.613 ± 0.042	0.666 ± 0.035	0.723 ± 0.044 <sup>**</sup>	0.660 ± 0.066
	肾上腺	0.023 ± 0.008	0.023 ± 0.002	0.026 ± 0.009	0.023 ± 0.008
	胸腺	0.104 ± 0.035	0.084 ± 0.015	0.106 ± 0.018	0.091 ± 0.027
	脑	0.662 ± 0.027	0.642 ± 0.041	0.644 ± 0.054	0.624 ± 0.085
	卵巢	0.048 ± 0.006	0.040 ± 0.005	0.047 ± 0.012	0.041 ± 0.006
	子宫	0.194 ± 0.036	0.233 ± 0.042	0.252 ± 0.033	0.232 ± 0.057

脏和肾脏的脏器系数显著升高( $P < 0.05$ 或 $0.01$ ),具有一定的剂量效应关系,可能与供试品相关,组织病理学检查仅发现高剂量组2只雄性大鼠肝细胞轻微肥大,肾脏未见明显异常。恢复期结束,中剂量组雌性大鼠肾脏质量及其脏器系数显著高于对照组( $P < 0.01$ ),但无剂量效应关系,故认为与供试品无关。

大体解剖:给药结束时双黄连口服液中剂量组No. 62动物(雌性)左肾缺失,考虑为正常变异。恢复期结束,中剂量组No. 72动物(雄性)发现皮下白色肿块,但组织病理学检查未见异常。除上述肉眼所见异常外,本次试验的动物被毛光滑,头部器官、会阴部均未见异常,各脏器组织及胸腔、腹腔等均未发现明显肉眼病变。

组织病理学检查:双黄连口服液低剂量组给药期死亡动物(No. 45、46、60)经组织病理学检查未见明显致死性病变。给药结束时,高剂量组2只雄性大鼠肝细胞轻微肥大,考虑与供试品相关,停药4周后可完全恢复。

在本次试验中,对照组和给药组均有少数动物的心、肝脏、脾、胃、垂体等脏器组织发生病理改变,各组发生率及病变程度比较均无显著差异。考虑为动物的

表7 恢复期结束时雄性大鼠脏器质量和脏器系数( $\bar{X} \pm s, n = 5$ )

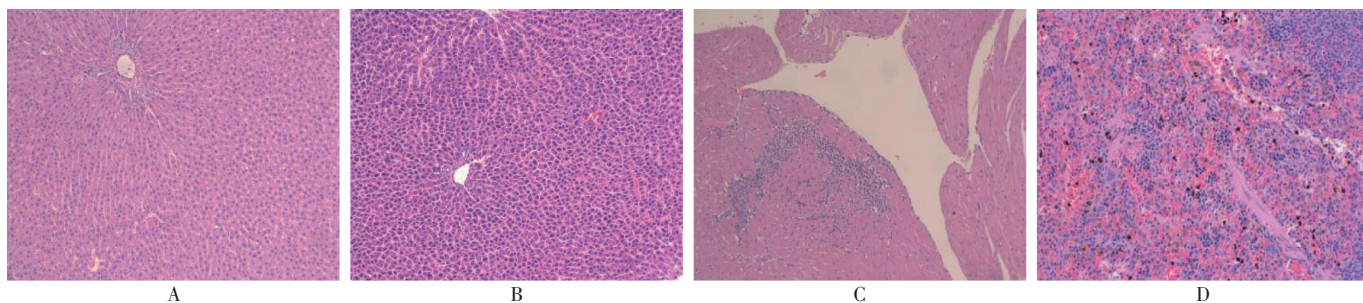
Tab. 7 Organ mass and organ coefficient of male rats at the end of the recovery period ( $\bar{X} \pm s, n = 5$ )

指标	剂量(mL/kg)				
	0	10	20	40	
体质量(g)	565 ± 21	592 ± 48	545 ± 93	604 ± 85	
脏器质量(g)	心脏	1.714 ± 0.097	1.728 ± 0.193	1.646 ± 0.086	1.864 ± 0.228
	肝脏	13.498 ± 1.101	15.367 ± 2.316	15.018 ± 3.123	16.726 ± 3.842
	脾脏	0.826 ± 0.069	0.887 ± 0.142	0.841 ± 0.190	0.925 ± 0.158
	肺脏	1.808 ± 0.183	2.006 ± 0.442	1.851 ± 0.257	1.818 ± 0.213
	肾脏	3.260 ± 0.320	3.453 ± 0.582	3.425 ± 0.410	3.569 ± 0.724
	肾上腺	0.042 ± 0.002	0.054 ± 0.009	0.050 ± 0.009	0.044 ± 0.006
	胸腺	0.336 ± 0.078	0.480 ± 0.137	0.330 ± 0.094	0.398 ± 0.063
	脑	2.143 ± 0.037	2.204 ± 0.084	2.229 ± 0.148	2.107 ± 0.157
	睾丸	3.609 ± 0.273	3.345 ± 0.499	3.584 ± 0.416	3.783 ± 0.546
	附睾	1.485 ± 0.145	1.440 ± 0.179	1.520 ± 0.190	1.611 ± 0.183
脏器系数(%)	心脏	0.303 ± 0.014	0.291 ± 0.012	0.310 ± 0.062	0.310 ± 0.025
	肝脏	2.392 ± 0.226	2.589 ± 0.268	2.827 ± 0.883	2.748 ± 0.250
	脾脏	0.146 ± 0.009	0.150 ± 0.017	0.153 ± 0.019	0.154 ± 0.019
	肺脏	0.320 ± 0.031	0.337 ± 0.053	0.344 ± 0.046	0.304 ± 0.038
	肾脏	0.577 ± 0.049	0.583 ± 0.085	0.638 ± 0.100	0.589 ± 0.060
	肾上腺	0.008 ± 0.001	0.009 ± 0.001	0.009 ± 0.002	0.008 ± 0.002
	胸腺	0.059 ± 0.012	0.082 ± 0.026	0.060 ± 0.008	0.066 ± 0.010
	脑	0.380 ± 0.016	0.373 ± 0.018	0.416 ± 0.052	0.354 ± 0.052
	睾丸	0.640 ± 0.067	0.566 ± 0.083	0.663 ± 0.048	0.631 ± 0.089
	附睾	0.263 ± 0.025	0.245 ± 0.041	0.282 ± 0.031	0.270 ± 0.041

自发性病变。详见图1。

### 3 讨论

中药毒性是中药化学成分和机体相互作用的生物学效应表达,是其治疗作用的基础。临床有关于双黄连口服液不良反应的相关报道,主要表现为皮疹、瘙痒、恶心、呕吐、腹痛等,均为常见一般不良反应,且临床发病率较低。本研究中通过持续13周对大鼠灌胃双黄连口服液以观察长期重复给予制剂可能出现的毒性反应,实验剂量分别为10、20、40 mL/kg,相当于临床等效剂量的1.9、3.8、7.5倍,符合低剂量原则上相当或高于动物药效剂量或临床使用剂量的等效剂量的要求,且中药、天然药物的受试物应采用能充分代表临床试验拟用样品和/或上市样品质量和安全性的样品,故本研究中以临床制剂浓度作为高剂量,进一步稀释后作为低、中剂量。研究结果显示,异常指标主要出现于雄性大鼠,包括摄食量降低,血清TG剂量依赖性升高,肝脏和肾脏系数升高。异常指标出现性别差异,可能与雄性动物体质量增长较雌性动物明显、总给药体积较大有关。大鼠摄食量降低,可能与供试品中含有糖类有关,



A. 对照组肝脏(×10) B. 高剂量组肝脏(×10) C. 高剂量组心脏(×10) D. 高剂量组脾脏(×20)

图1 给药结束时大鼠脏器病理组织图(HE)

A. Liver in the control group (×10) B. Liver in the high - dose group (×10) C. Heart in the high - dose group (×10) D. Spleen in the high - dose group (×20)

Fig.1 Histopathologic map of rat organs at the end of administration (HE)

剂量越高,糖类摄入越多,摄食量降低越明显,但动物体质量却未见明显降低。血清TG升高可能也与供试品中的糖类有关。动物脏器系数可近似反映该脏器的功能状态和病变情况,本研究中肾脏和肝脏系数升高,可能为药物毒性靶器官,但组织病理学检查中肾脏未见明显异常,仅高剂量组2只大鼠出现轻微肝细胞肥大,与肾脏和肝脏损伤相关的血清生化指标也未见异常,虽然肾脏和肝脏异常与供试品相关,但改变的程度较低及发生例数较少,未对大鼠造成明显的毒性反应。虽有部分异常指标(如给药结束雄性大鼠低、高剂量组MCV明显高于对照组,恢复期结束雌性大鼠中、高剂量组GLB显著高于对照组,高剂量组GLU显著高于对照组)但均不呈剂量效应关系,其相关联的指标也无显著变化,因此认为此类异常指标是数据的正常波动及实验动物的个体差异,而非受试物的毒理学作用。综合考虑,本次试验未见明显毒性反应剂量为40 mL/kg,为临床等效剂量的7.5倍。

综上所述,连续13周灌胃大鼠双黄连口服液,给药结束时未见明显毒性反应,恢复期结束时未见延迟或蓄积性毒性反应。该研究为双黄连口服液临床用药的安全性提供了可靠的试验依据,提示该制剂无明显毒性反应,且其临床用量为安全剂量。

#### 参考文献

[1] 郑正伟,叶文倩,刘传锋. 基于网络药理学探讨双黄连口服液治疗新型冠状病毒肺炎的机制研究[J]. 中药材,2020,43(6):1515-1522.  
[2] 陈果,李立,吕诚,等. 运用网络生物学方法分析双黄连口服液治疗甲型H1N1流感的药理机制[J]. 中医杂志,2014,55(6):513-516.  
[3] 周雪梦,陆春妮,元文宝,等. 清开灵和双黄连口服液体内抗禽流感病毒作用[J]. 中草药,2011,42(7):1351-1356.  
[4] NI L, WEN Z, HU XW, et al. Effects of Shuanghuanglian oral liquids on patients with COVID - 19: a randomized, open - label, parallel - controlled, multicenter clinical trial [J].

Frontiers of Medicine,2021,15(5):1-14.

[5] 吴成林,杨占秋,侯炜,等. 双黄连口服液抗呼吸道合胞病毒的实验研究[J]. 数理医药学杂志,2005,18(6):82-84.  
[6] 田乐,周伟,狄留庆,等. 双黄连口服液中主要活性成分体外抗菌效应相关性研究[J]. 南京中医药大学学报,2012,28(1):89-91.  
[7] 杨彦军. 双黄连口服液对肺炎双球菌等十一种致病菌抑制作用的研究[J]. 黑龙江医药,2013,26(4):611-614.  
[8] 郭娟. 双黄连口服液抗炎解热作用的实验研究[J]. 中国医药指南,2013,11(33):53-54.  
[9] 梁业飞,周有旺. 双黄连口服液解热抗炎作用的实验研究[J]. 临床合理用药杂志,2011,4(33):51-52.  
[10] 谢丽华,蔺晓源,何飘,等. 基于网络药理学与分子对接法探寻双黄连口服液治疗新型冠状病毒肺炎的有效成分及机制研究[J]. 湖南中医药大学学报,2020,40(9):1123-1131.  
[11] 叶劲彬. 双黄连口服液治疗小儿急性扁桃体炎的效果研究[J]. 临床医药文献电子杂志,2019,6(84):177-178.  
[12] 郑燕冰. 双黄连口服液联合开喉剑喷剂治疗小儿疱疹性咽峡炎的临床疗效[J]. 吉林医学,2019,40(10):2280-2282.  
[13] 丁艳琴,逯若兰,张旭. 双黄连口服液治疗小儿疱疹性咽峡炎的临床疗效及对血清炎症因子影响的研究[J]. 中国医药科学,2021,11(24):107-110.  
[14] 贾方. 双黄连口服液联合盐酸雷尼替丁胶囊治疗口腔溃疡的临床疗效研究[J]. 中外医疗,2023,42(28):64-67.  
[15] 黄姝. 双黄连口服液联合盐酸雷尼替丁胶囊治疗复发性口腔溃疡的临床疗效[J]. 临床合理用药,2023,16(26):133-136.  
[16] 吴苑滢,杨剑,曾芸,等. 浓缩型双黄连口服液临床药效学试验[J]. 动物医学进展,2017,38(11):126-131.  
[17] 于海明,贺明,唐家沆,等. 多器官细胞共同培养方法检测双黄连口服液的细胞毒性[J]. 湖南师范大学学报(医学版),2016,13(5):4-7.  
[18] 贺一新,樊静恒,董金鹏,等. 双黄连口服液(仅适用于儿童)的大鼠毒理学研究[J]. 中国中医药信息杂志,2017,24(4):61-66.

(收稿日期:2024-01-22;修回日期:2024-08-19)