

# 一叶抗流感胶囊抑制甲型 H1N1 流感病毒感染的体内外研究

郭姗姗<sup>1</sup>, 高英杰<sup>1</sup>, 马雪萍<sup>2</sup>, 潘昕<sup>1</sup>, 金亚宏<sup>1</sup>, 崔晓兰<sup>1\*</sup>, 顾正一<sup>2\*</sup>

(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 2. 新疆维吾尔自治区药物研究所, 乌鲁木齐 830004)

**[摘要]** **目的:** 研究一叶抗流感胶囊体内外抗甲型 H1N1 流感病毒的作用。**方法:** ICR 小鼠随机分为对照组、利巴韦林组 (0.07 g·kg<sup>-1</sup>)、抗病毒颗粒组 (4.24 g·kg<sup>-1</sup>)、一叶抗流感胶囊 (1.5, 0.75, 0.38 g·kg<sup>-1</sup>)，采用甲型 H1N1 流感病毒 (FM1, PR8) 滴鼻感染小鼠造成肺炎模型，治疗给药于感染后连续 ig 4 d, 预防给药 4 d 后再感染病毒，计算肺指数、死亡率、死亡保护率、平均存活天数和生命延长率；体外 Cytopathic effect (CPE) 法观察一叶抗流感胶囊抗流感病毒的作用，犬肾上皮细胞 (Madin-Darby canine kidney, MDCK) 细胞密度为 1 × 10<sup>5</sup> 个/mL，药物质量浓度为 2.5, 1.25, 0.62, 0.31 g·L<sup>-1</sup>，作用时间为 48 h，每组 4 个样本。**结果:** 与正常组比较，采用甲型 H1N1 流感病毒 FM1 和 PR8 病毒株感染小鼠后，治疗给药和预防给药下，病毒组肺指数均明显增高，治疗给药组的死亡率分别为 90% 和 90%、预防给药组的死亡率为 85% 和 55%，治疗给药组的平均存活天数分别为 9.20 d 和 9.25 d、预防给药组的平均存活天数分别为 9.35, 11.60 d；一叶抗流感胶囊高、中剂量组治疗性给药后能明显降低流感病毒 FM1 株和 PR8 株感染后小鼠的肺指数 (高剂量组 1.03 ± 0.28, 0.88 ± 0.13；中剂量组 1.08 ± 0.14, 0.92 ± 0.10)；延长平均存活天数 [高剂量组 (11.05 ± 2.86), (11.20 ± 2.86) d, 中剂量组 (10.95 ± 2.78) d, (10.90 ± 2.86) d, 一叶抗流感胶囊高、中剂量组预防性给药明显延长平均存活天数 (11.15 ± 2.30), (11.75 ± 2.24) d。一叶抗流感胶囊在体外对 FM1 毒株的 IC<sub>50</sub> 为 0.89 g·L<sup>-1</sup>，治疗指数为 6.75。**结论:** 一叶抗流感胶囊对甲型 H1N1 流感亚型 FM1 株体内、体外均有明显的治疗作用；对 PR8 株仅体内治疗给药有效。

**[关键词]** 一叶抗流感胶囊；流感病毒；病毒性肺炎；犬肾上皮细胞

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)18-0123-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014180123

## Activity of Yiye Anti-influenza Capsule Against Influenza A/H1N1 Virus *in vitro* and *in vivo*

GUO Shan-shan<sup>1</sup>, GAO Ying-jie<sup>1</sup>, MA Xue-ping<sup>2</sup>, PAN Xin<sup>1</sup>, JIN Ya-hong<sup>1</sup>, CUI Xiao-lan<sup>1\*</sup>, GU Zheng-yi<sup>2\*</sup>

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;  
2. Xinjiang Institute of Mater Medica, Urumqi 830004, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of Yiye Anti-influenza capsule (YYAFC) on the resistance to influenza A/H1N1 virus. **Method:** ICR mice were randomly divided into control group (0.5% CMC, 20 mL·kg<sup>-1</sup>), ribavirin (0.07 g·kg<sup>-1</sup>), influenza virus particles group (4.24 g·kg<sup>-1</sup>) and YYAFC group (1.5, 0.75, 0.38 g·kg<sup>-1</sup>). The pneumonic model of mice were infected by influenza A (H1N1) with nasal drops, mice were administrated after infection virus in treatment and precaution groups. The lung index, death rate, death protection rate, the average survival period and life prolongation were calculated; cytopathic effect (CPE) was used to evaluate the anti-influenza virus (H1N1) effect of YYAFC *in vitro*. **Result:** Compared to normal group, mice were infected with the A/H1N1 influenza virus (FM1 and PR8), the lung index in treatment and precaution groups was significantly increased ( $P < 0.01$ ), death rate was 90% and 90% in treatment group and

**[收稿日期]** 20140505(017)

**[基金项目]** 国家“重大新药创制”重大科技专项(2011ZX09102-009-07-01)

**[第一作者]** 郭姗姗, 助理研究员, Tel: 86-10-84252805, E-mail: ruochushan@163.com

**[通讯作者]** \* 崔晓兰, 研究员, Tel: 010-842528052-4102, E-mail: cuixl2812@sina.com;

\* 顾正一, 研究员, Tel: 0991-2318172, E-mail: zhengyi087@126.com

85% and 55% in precaution group, respectively, the average survival period was 9.20 days and 9.25 days in treatment groups and 9.35 days and 11.60 days in precaution group. In the treatment group of high and medium dosage YYAFC, the lung index decreased significantly, while the life span of mice was prolonged. In the precaution group of high and medium dosage YYAFC, the life span of mice was prolonged significantly. The  $IC_{50}$  of the sample inhibiting CPE caused by FM1 *in vitro* with doses of  $0.89 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  and the TI was 6.75. **Conclusion:** YYAFC showed inhibitory effect on influenza A virus FM1 stain *in vivo* and *in vitro*.

**[Key words]** Yiye Anti-influenza capsule; influenza virus; viral pneumonia; Madin-Darby canine kidney cell

流行性感(流感)是由流感病毒引起的一种呼吸道传染病,常急性发病,传染性强。主要经呼吸道飞沫迅速传播,人群普遍易感,流感抗原容易变异,难于控制。临床表现来看为发热、全身乏力、鼻塞流鼻涕等症状。我国多见于18岁以下儿童及青少年,发达国家好发于青壮年<sup>[1]</sup>。

一叶抗流感胶囊是中药组方,临床主要用于治疗流感,曾用名和剂型为金蒿抗流感滴丸,由新疆一枝蒿和贯叶金丝桃两味传统药材经现代工艺制成的复方制剂,其中有效成分一枝蒿酮酸和金丝桃苷报道有利尿、咳嗽、解痉、降低血压、降低胆固醇、镇痛和保护心血管等作用。

研究发现该方剂在体内外均具有明显的抗流感病毒、抗炎、免疫调节和抑菌的作用<sup>[2-4]</sup>。本研究体内采用两株甲型流感病毒(H1N1亚型FM1株和PR8株)感染小鼠造成病毒性肺炎模型,观察一叶抗流感胶囊治疗性给药和预防性给药对小鼠病毒性肺炎的抑制作用,观察其对小鼠生存天数和死亡率的影响;体外CPE法观察一叶抗流感胶囊对流感病毒FM1、PR8感染犬肾上皮细胞(MDCK)的作用。

## 1 材料

**1.1 动物** ICR小鼠(SPF/VAF级),体重( $14 \pm 1$ )g,雌雄不限。由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,动物合格证SCXK(京)2006-0009。

**1.2 病毒株** 甲型H1N1流感病毒鼠肺适应株(FM/1/47株和PR/8/34株),购自中国疾病预防控制中心病毒病预防控制研究所,由本生物安全实验室(ABSL-2)鸡胚传代,TCID<sub>50</sub>分别为 $10^{-4.5}$ 、 $10^{-4}$ , $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存备用。

**1.3 细胞** MDCK,中国医学科学院基础医学研究所 & 北京协和医学院基础学院细胞中心,本室传代液氮冻存。

**1.4 受试药物** 一叶抗流感胶囊,是由新疆一枝蒿 *Artemisia rupestris* L. 和贯叶金丝桃 *Hypericum perforatum* 两味药材按质量1:1经乙醇提取,大孔吸

附树脂纯化得到,药材鉴定人为黄华研究员(新疆维吾尔自治区药物研究所,专业为中药学),其有效成分为一枝蒿酮酸,得率为38.02%,由新疆西部加斯特药业有限责任公司生产,生产批号20130731,性状:褐色胶囊内容物。

**1.5 阳性对照药物** 利巴韦林颗粒(四川百利药业有限责任公司生产,批号130710),抗病毒颗粒(四川光大制药有限公司,批号1302107-017)。

**1.6 细胞培养液** 含10%FBS(天津市灏洋生物制品科技有限责任公司产品,批号TBD31HB),DMEM(Gibco,900162)。

**1.7 仪器** 倒置相差显微镜(日本Olympus),CO<sub>2</sub>培养箱(日本Sanyo公司),MSC18A2型生物安全柜(美国Thermo),YP/0001电子天平(上海越平科学仪器有限公司),AR204电子天平(美国Chaus)。

## 2 方法

**2.1 药物配置方法** 体内试验时用0.5%羧甲基纤维素钠(CMC)溶液配制,体外试验用高纯水配制、实验时用细胞维持液倍比稀释。

**2.2 体内试验剂量设计** 一叶抗流感胶囊人临床剂量为 $4.8 \text{ g} \cdot \text{d}^{-1}$ ,按70kg算,即 $68.57 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。小鼠试验用量分别为1.5、0.75、0.38 $\text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ,分别相当于人临床用药量的2倍、等倍和1/2倍;利巴韦林临床用量为 $450 \text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$ ,换算成小鼠等效剂量为 $0.07 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ;抗病毒颗粒临床用量为 $27 \text{ g} \cdot \text{d}^{-1}$ ,换算成小鼠等效剂量为 $4.24 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,试验时各药物按等容积 $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ig给药。

**2.3 治疗给药对流感病毒感染小鼠肺炎模型的影响**<sup>[5]</sup> 小鼠按体重等级随机分为7组,分别为正常对照组、病毒对照组、利巴韦林组、抗病毒颗粒组、一叶抗流感胶囊高、中、低3个剂量组(1.5、0.75、0.38 $\text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),每组12只。除正常对照组外,将小鼠用乙醚轻度麻醉,以15个LD<sub>50</sub>流感病毒液(FM1和PR8株)滴鼻感染,每只35 $\mu\text{L}$ 。感染当天开始给药,每次按 $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ig,1次/d,连续4d,正常

对照组和病毒对照组同等条件灌胃给予 0.5% CMC。第 5 天称体重后解剖称肺重,计算肺指数及肺指数抑制率。

肺指数 = 肺湿质量(g)/体重(g)

肺指数抑制率 = 病毒对照组肺质量 - 实验组肺质量/病毒对照组肺质量 - 正常对照组肺质量 × 100%

**2.4 预防给药对流感病毒感染小鼠肺炎模型的作用** 小鼠按体重随机分为 7 组,分组方法及给药方式同 2.3,每天 1 次,连续 4 d。最后 1 次给药后除正常对照组外,对小鼠进行感染,感染方法同 2.3。感染后不再给药,感染后第 4 天,称取小鼠体重后解剖,全肺称质量,计算肺指数及肺指数抑制率。

**2.5 治疗给药对流感病毒感染小鼠肺炎模型的死亡保护作用<sup>[6]</sup>** 取小鼠按体重等级随机分为 6 组,分别为病毒对照组、利巴韦林组、抗病毒颗粒组、一叶抗流感胶囊高、中、低 3 个剂量组,每组 20 只。以 2 个 LD<sub>50</sub> 流感病毒液(FM1 和 PR8 株)滴鼻感染,每只 35 μL。感染当天开始给药,连续 4 d。观察感染后 2 周内动物的死亡情况,计算死亡率、死亡保护率、平均存活天数和生命延长率。

死亡率 = 死亡数/动物总数

死亡保护率 = 病毒对照组死亡率 - 试验组死亡率/病毒对照组死亡率 × 100%

生命延长率 = 试验组存活天数 - 病毒对照组存活天数/病毒对照组存活天数 × 100%

**2.6 预防给药对流感病毒感染正常小鼠肺炎模型的死亡保护作用** 取小鼠按体重等级随机分为 6 组,分组方法和给药方式同 2.3,每日 1 次,连续 4 天。最后 1 次给药后,对小鼠进行感染,感染方法同 2.5。观察死亡情况方法,统计方法同 2.5。

**2.7 对 MDCK 细胞的毒性试验** 将一叶抗流感胶囊药物母液用培养液做 1:2 ~ 1:256 倍比稀释后,加到已长成单层的 MDCK 细胞培养板中,100 μL/孔,每个稀释度药液做 4 个复孔,同时设正常细胞对照。将培养板置 37 ℃,5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养,48 h 后每孔加入 10 μL MTT(5 g·L<sup>-1</sup>),37 ℃ 培养 4 h 后,小心吸去培养液,加入 100 μL DMSO,置摇床上震荡,结晶物充分溶解后,测吸光度(A)<sub>490 nm</sub>。找出最大无毒浓度(TC<sub>0</sub>),并按 Reed-Muench 法计算 50% 细胞毒性浓度(TC<sub>50</sub>)。

**2.8 体外抗流感病毒作用<sup>[7-8]</sup>** 取已长成单层 MDCK 细胞的培养板,分别接种的不同稀释度的流感病毒液(FM1 株 10<sup>-2.3</sup> 稀释度、PR8 株 10<sup>-2</sup> 稀释度),每种毒株 100 μL/孔,置 37 ℃ 5% CO<sub>2</sub> 培养箱

中吸附 1 h 后,加入 TC<sub>0</sub> 及以下的 3 个浓度的一叶抗流感胶囊,100 μL/孔,同时设正常对照和病毒对照,并以利巴韦林为阳性对照。置 37 ℃ 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养,每日倒置显微镜下观察细胞病变情况。细胞病变按 6 级标准判断: - :细胞生长正常,无病变出现; ± :细胞病变少于整个单层的 10%; + :细胞病变约占整个单层细胞的 25% 以下; ++ :细胞病变约占整个单层细胞的 50% 以下; +++ :细胞病变约占整个单层细胞的 75% 以下; ++++ :细胞病变约占整个单层细胞的 75% 以上;当病毒对照组细胞病变为 +++ 时记录试验结果,并按 Reed-Muench 计算 50% 抑制浓度(IC<sub>50</sub>)和治疗指数(TI),TI = TC<sub>50</sub>/IC<sub>50</sub>。

**2.9 统计方法** 试验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS 13.0 进行统计,肺指数和平均存活天数采用 *t* 检验进行统计,死亡率采用卡方检验进行统计。*P* < 0.05 为有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 一叶抗流感胶囊预防或治疗给药对流感病毒感染小鼠肺炎模型的作用** 流感病毒 FM1 和 PR8 株感染小鼠后,病毒对照组肺指数明显增高,与正常对照组比较有显著性差异;一叶抗流感胶囊进行治疗性给药后,给药 3 个不同剂量组肺指数均有不同程度降低,其中 FM1 株高、中、低剂量组及 PR8 高、中剂量组与模型组比较有显著性差异。给予一叶抗流感胶囊进行预防性给药后,3 个剂量组肺指数均没有明显改变。见表 1。

**3.2 治疗给药对流感病毒感染小鼠肺炎模型的死亡保护作用** 流感病毒 FM1 株感染正常小鼠 2 周内,病毒对照组动物死亡率为 90%,平均存活天数为 9.20 d;治疗性给药后,3 个剂量组死亡数均有一定程度的降低,但与模型组比较没有显著性差异;高、中剂量组均能明显延长感染小鼠存活天数,与模型组比较具有显著性差异。PR8 株感染 2 周内,病毒对照组动物死亡率为 90%,平均存活天数为 9.25 d;治疗性给药后,高剂量组动物的死亡数明显降低,与病毒组比较具有显著性差异(*P* < 0.05);高、中剂量组均能明显延长感染小鼠存活天数,与病毒组比较具有显著性差异(*P* < 0.05)。见表 2。

**3.3 预防给药对流感病毒感染小鼠肺炎模型的死亡保护作用** 流感病毒 FM1 株感染正常小鼠 2 周内,病毒对照组动物死亡率为 85%,平均存活天数为 9.35 d;预防性给药后,3 个剂量组动物的死亡数均有一定程度的降低,但与模型组比较没有显著性差异;高、中剂量组能明显延长感染小鼠存活天数,

表 1 一叶抗流感胶囊治疗及预防给药对流感病毒感染小鼠肺炎的抑制作用 ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

给药方案	组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	FM1 株		PR8 株	
			肺指数	抑制率/%	肺指数	抑制率/%
治疗	正常对照	-	0.67 ± 0.08 <sup>2)</sup>	-	0.68 ± 0.10 <sup>2)</sup>	-
	病毒对照	-	1.23 ± 0.13	-	1.08 ± 0.21	-
	利巴韦林	0.07	0.90 ± 0.14 <sup>2)</sup>	56.85	0.91 ± 0.07 <sup>1)</sup>	42.85
	抗病毒颗粒	4.24	1.04 ± 0.17 <sup>2)</sup>	32.94	0.89 ± 0.15 <sup>1)</sup>	46.74
	一叶抗流感胶囊	1.50	1.03 ± 0.28 <sup>1)</sup>	34.82	0.88 ± 0.13 <sup>1)</sup>	50.30
		0.75	1.08 ± 0.14 <sup>1)</sup>	26.61	0.92 ± 0.10 <sup>1)</sup>	38.79
		0.38	1.00 ± 0.13 <sup>2)</sup>	38.77	1.04 ± 0.18	9.65
预防	正常对照	-	0.77 ± 0.16	-	0.68 ± 0.07	-
	病毒对照	-	1.06 ± 0.17 <sup>2)</sup>	-	0.94 ± 0.14 <sup>2)</sup>	-
	利巴韦林	0.07	0.99 ± 0.20	26.42	0.83 ± 0.04 <sup>1)</sup>	40.48
	抗病毒颗粒	4.24	1.06 ± 0.15	-0.58	0.87 ± 0.13	27.11
	一叶抗流感胶囊	1.50	1.04 ± 0.14	8.18	0.94 ± 0.17	1.85
		0.75	1.04 ± 0.12	7.43	0.94 ± 0.11	-0.71
		0.38	1.06 ± 0.13	2.13	0.98 ± 0.12	-14.57

注:与病毒对照组比较<sup>1)</sup>P < 0.05, <sup>2)</sup>P < 0.01(表 2 ~ 3 同)。

表 2 一叶抗流感胶囊治疗给药对流感病毒 FM1 株及 PR8 株感染小鼠肺炎模型的死亡保护作用 ( $\bar{x} \pm s, n = 20$ )

病毒株	组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	死亡数	死亡率	保护率	平均存活时间	生命延长率
			/只	/%	/%	/d	/%
FM1	病毒对照	-	18	90	-	9.20 ± 2.42	-
	利巴韦林	0.07	6	30	66.67 <sup>2)</sup>	13.05 ± 1.79 <sup>2)</sup>	41.85
	抗病毒颗粒	4.24	14	70	22.22	10.90 ± 2.67 <sup>1)</sup>	18.48
	一叶抗流感胶囊	1.50	12	60	33.33	11.05 ± 2.86 <sup>1)</sup>	20.11
		0.75	13	65	27.78	10.95 ± 2.78 <sup>1)</sup>	19.02
		0.38	14	70	22.22	10.75 ± 2.63	16.85
PR8	病毒对照	-	18	90	-	9.25 ± 2.17	-
	利巴韦林	0.07	5	25	72.22 <sup>2)</sup>	12.90 ± 2.02 <sup>2)</sup>	39.46
	抗病毒颗粒	4.24	12	60	33.33	10.95 ± 2.74 <sup>1)</sup>	18.38
	一叶抗流感胶囊	1.50	11	55	38.89 <sup>1)</sup>	11.20 ± 2.86 <sup>1)</sup>	21.08
		0.75	12	60	33.33	10.90 ± 2.86 <sup>1)</sup>	17.84
		0.38	14	70	22.22	10.70 ± 2.74	15.68

与模型组比较具有显著性差异(表 3)。PR8 株感染正常小鼠 2 周内,病毒组死亡率为 55%,平均存活天数为 11.60 d;预防性给药后,3 个剂量组动物的死亡数、存活天数均没有明显变化。

**3.4 对 MDCK 细胞的毒性** 加入一叶抗流感胶囊后,MDCK 细胞变圆或形状不规则,折光性增加;培养 48 h 后,用 MTT 法测定细胞活性,最大无毒浓度(TC<sub>0</sub>)为 2.5 g·L<sup>-1</sup>,TC<sub>50</sub>为 6.01 g·L<sup>-1</sup>。

**3.5 体外抗流感病毒作用** 光学显微镜下可见

FM1、PR8 病毒对照孔细胞病变效应主要表现为圆缩脱落、少数畸形、死亡,加入一叶抗流感胶囊后,对 FM1 所致细胞病变有保护作用,且随药物浓度降低病变细胞有增多趋势,表现为在体外对甲型 H1N1 流感病毒 FM1 株有不同程度的抑制作用,其 IC<sub>50</sub>均为 0.89 g·L<sup>-1</sup>,治疗指数 TI 为 6.75;而对 PR8 株无明显的抑制作用。

#### 4 讨论

一叶抗流感胶囊是一种防治甲型流感的推荐用

表3 一叶抗流感胶囊预防给药对流感病毒 FM1 株感染小鼠肺炎模型的死亡保护作用( $\bar{x} \pm s, n=20$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	死亡数 /只	死亡率 /%	保护率 /%	平均存活时间 /d	生命延长率 /%
病毒对照	-	17	85	-	9.35 ± 2.32	
利巴韦林	0.07	13	65	23.53	11.00 ± 2.41 <sup>1)</sup>	17.65
抗病毒颗粒	4.24	14	70	17.65	10.75 ± 2.40	14.97
一叶抗流感胶囊	1.50	13	65	23.53	11.15 ± 2.30 <sup>1)</sup>	19.25
	0.75	11	55	35.29	11.75 ± 2.24 <sup>2)</sup>	25.67
	0.38	16	80	5.88	10.05 ± 2.24	7.48

中药组方,应用于临床具有较好的疗效。本研究采用两株甲型 H1N1 流感病毒感染小鼠造成病毒性肺炎的动物模型和感染易感细胞 MDCK 造成体外细胞模型,在体内外对一叶抗流感胶囊治疗流感的作用进行评价。

采用甲型 H1N1 流感病毒 FM1 和 PR8 病毒株感染正常小鼠后肺指数明显增高,较正常对照组有显著性差异;感染小鼠 2 周内,病毒对照组动物死亡率均为 90%,平均存活天数分别为 9.20,9.25 d,给予一叶抗流感胶囊治疗后能明显降低流感病毒 FM1 株和 PR8 株感染后小鼠的肺指数,对小鼠肺部炎症有明显治疗作用,高、中剂量组与模型对照组比较有显著性差异;还降低病毒性肺炎小鼠死亡率、其中 PR8 毒株感染的高剂量组较模型组有显著性差异,高、中剂量组还可以明显延长小鼠的平均存活天数。

中医书籍中早已有了瘟疫“治未病、未病先防”的史料记载,强调预防重于治病,在历次疫情流行中发挥着重要的作用。选用一叶抗流感胶囊防治甲型 H1N1 流感,FM1 毒株感染小鼠 3 个剂量组的死亡数均有一定程度的降低,高、中剂量组均能明显延长感染小鼠的存活天数,与模型对照组比较具有显著性差异。PR8 感染小鼠 3 个剂量组预防给药动物的死亡数、存活天数没有明显变化,FM1、PR8 感染一叶抗流感胶囊预防组的肺指数均没有明显改变。

CPE 法通过观察一叶抗流感胶囊对甲型 H1N1 流感病毒 FM1,PR8 感染 MDCK 细胞的病变观察,发现其对 FM1 病毒所致细胞病变有保护作用,且浓度与病变呈负相关;而对 PR8 株无明显的抑制作用,这也为进一步的研究提供了依据。

综合体内外研究结果,一叶抗流感胶囊对甲型 H1N1 亚型毒株 FM1 具有较好的疗效,不仅体外对 FM1 株有明显的抑制作用,在体内治疗性给药和预

防给药均可明显降低动物的死亡数和延长存活天数。而对 H1N1 亚型毒株 PR8 仅在体内治疗给药时可以减轻肺炎模型小鼠的肺部炎症、减少感染动物的死亡数、延长存活天数。一叶抗流感胶囊临床抗流感的机制有待进一步的实验观察。

#### [参考文献]

- [1] 来犇牛,金国萍,王亚南.绍兴市某学校甲型 H1N1 流感暴发流行病学调查[J].中国公共卫生管理杂志,2014,30(1):76.
- [2] 孙艳,顾政一,黄华,等.金蒿滴丸提取物纯化前后体外抗流感病毒作用对比研究[J].时珍国医国药,2010,21(11):2923.
- [3] 顾政一,杨巧丽,黄华,等.金蒿抗流感滴丸对小鼠免疫功能的影响[J].中华中医药杂志,2012,27(10):2656.
- [4] 杨巧丽,顾政一,黄华,等.金蒿抗流感滴丸对小鼠 TNF- $\alpha$ 、IL-2 和 IFN- $\gamma$  等细胞因子的影响[J].石河子大学学报:自然科学版,2012,30(1):56.
- [5] Yang Quanjun, Wu Bin, Shi Yujing, et al. Bioactivity-guided fractionation and analysis of compounds with Anti-influenza Virus Activity from *Gardenia jasminoides* Ellis [J]. Arch Pharm Res, 2012, 35(1):9.
- [6] 王振中,鲍琳琳,孙兰,等.热毒宁注射液抗甲型 H1N1 流感病毒作用机制研究[J].中草药,2014,45(1):90.
- [7] 郑倩倩,林艺,谢克勤,等.大蒜油体外抗流感病毒作用分析[J].中国公共卫生管理杂志,2013,29(4):593.
- [8] LIU Zhao, YANG Zhan-qiu, XIAO Hong. Antiviral activity of the effective monomers from folium isatidis against influenza virus *in vivo* [J]. Virologica Sinica, 2010, 25(6):445.

[责任编辑 聂淑琴]