

到脾门的测量数值,异常病例为 (4.8 ± 0.8) cm,治疗后测量有 0.1 cm 以上缩小者为有效病例数。两组对照差异显著 ($P < 0.01$),治疗组结果优于对照组。

2.3 不良反应:两组在治疗期间及结束时均未出现发热、皮疹等反应。治疗组中有 5 例病人出现溏便,持续 2~7 d,不伴腹痛未予治疗自行缓解,对照组未见腹泻。

3 讨论

安络化纤丸为主要治疗肝纤维化的中成药。其组成为地黄、三七、水蛭、牛黄、地龙等。地黄清热滋

阴,三七逐瘀止血,水蛭破血散瘀,地龙定惊通络,其主要功效为疏经活络、软坚散结,被列为国家医药“处方保密品种”。它的作用机制为改善肝脏微循环、修复炎性细胞、减少储脂细胞的激活、抑制成纤维母细胞的生成,促进肝纤维的降解吸收。

慢肝 4 项指标是敏感且易于普及的早期肝纤维化指标,在肝纤维化积累到相当程度后会形成门脉高压,在 B 超影像上,表现为门脉扩张和脾脏增厚。安络化纤丸治疗后,在以上两方面均较对照组大幅度地提高了疗效。临床使用中偶见腹泻,未见其他不良反应。其长期疗效尚需进一步观察。

新雪颗粒体外抑制呼吸道合胞病毒作用研究

余善强¹,刘 妮²,赵 昉²

(1. 广州奇星药业有限公司,广东 广州 510310; 2. 广州中医药大学热带医学研究所,广东 广州 510405)

呼吸道合胞病毒(respiratory syncytial virus, RSV)是婴幼儿和低龄儿童急性上下呼吸道感染的常见病原微生物。几乎所有 2 岁以下儿童都有过 RSV 感染,尤其是以 1~3 个月的婴儿为重^[1]。到目前为止,对 RSV 的治疗仍无最安全有效的药物,虽然许多研究已有了一定进展^[2]。新雪颗粒作为治疗呼吸系统疾病的常用中成药,主要成分为穿心莲、竹叶卷心、牛黄、栀子、石膏、升麻等,有清热解毒之功效,常用于普通感冒、流行性感、上呼吸道感染、支气管炎、肺炎、病毒性肺炎等疾病的消炎、退热。为此,本实验采用人喉上皮细胞癌细胞系(HeP-2),通过不同的给药途径,研究新雪颗粒对 RSV 的治疗、预防和直接杀伤作用。

1 实验材料

1.1 实验药物:新雪颗粒(批号 5003,由广州奇星药业有限公司生产),规格每包 1.7 g [其中按干燥品计算,每包(小袋,1.7 g)含穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯的总量不少于 2.0 mg],用纯水溶解颗粒,60℃水浴 2 h,取上清液,80℃间歇灭菌 3 d,4℃保存备用。阳性对照药物:病毒唑干粉,批号 0308012,由丽珠集团有限责任公司提供,用纯水制成 1.0 g/L 溶液,滤过除菌后置 4℃保存备用。

1.2 细胞:人喉上皮细胞癌细胞系(HeP-2),由中山大学医学院动物中心提供。常规方法传代培养。

1.3 病毒株:呼吸道合胞病毒(RSV) Long 株,由广州市儿童医院提供。

1.4 仪器:NAPCO CO₂ 恒温培养箱;Olympus CK40 倒置微生物显微镜。

2 方法

2.1 药物毒性实验:将 HeP-2 细胞以 2×10^5 /mL 滴入 96 孔板中,每孔 0.1 mL,成单层后,用细胞维持液将药液连续倍比稀释 7 个质量浓度(170、85、42.5、21.25、10.63、5.31、2.66 g/L),每个质量浓度设 4 孔,每孔 0.1 mL 加入 96 孔细胞培养板中,置 37℃、5% CO₂ 恒温培养箱培养,每日在倒置显微镜下观察细胞形态,连续观察 4 d。同时设立正常细胞对照。计算药物半数毒性浓度(TC₅₀)。

2.2 病毒毒力测试:采用组织培养半数感染量(TCID₅₀)微量法。

2.3 药物抗病毒实验

2.3.1 对病毒所致细胞病变(CPE)的抑制作用:HeP-2 细胞 2×10^5 /mL,每孔 0.1 mL,长成单层时加入不同质量浓度(31.24、15.62、7.81、3.91、1.95 g/L)的药物,每个质量浓度设 4 个复孔,同时接种 100 TCID₅₀ RSV,37℃、5% CO₂ 恒温培养箱培养 4 d。当病毒对照 CPE 达 25%~75% 时,判断结果(CPE < 10% 为“-”,CPE 25% 为“+”,CPE 50% 为“++”,CPE 75% 为“+++”,CPE > 90% 为

“++++”)。

2.3.2 对病毒感染的预防作用:HeP-2 细胞 2×10^5 /mL,每孔 0.1 mL,长成单层时加入不同质量浓度 (31.24、15.62、7.81、3.91、1.95 g/L) 的药物,于 37 °C 培养过夜,作用 24 h,弃掉含药物的维持液,用 Hanks 缓冲液洗涤 2 次,加入 100 TCID₅₀病毒攻击,37 °C 培养 4 d。

2.3.3 对病毒感染的治疗作用:细胞长成单层后用 100 TCID₅₀病毒攻击,37 °C 作用 1 h,弃掉含病毒的维持液,用 Hanks 缓冲液洗涤 2 次,加入不同质量浓度的药物于 37 °C 培养 4 d。观察 CPE 产生情况。

2.3.4 对病毒的直接杀伤作用:将 15.62 g/L 新雪颗粒与病毒液等量混合;同时设对照 (含 2% 小牛血清 DMEM 与病毒液等量混合),于 37 °C 处理 12 h 后,稀释成 $1 \times 10^{-1} \sim 1 \times 10^{-5}$ 不同浓度感染细胞,37 °C、5% CO₂ 恒温培养箱培养 4 d,观察 CPE 产生情况。

2.3.5 药物阻止病毒复制的动力学测定:用 15.62 g/L 新雪颗粒加等量含 TCID₅₀ 10^{-5} /mL RSV 为实验组,病毒对照组不加药物仅加等量维持液,每组均放于 37 °C、5% CO₂ 孵箱中培养,分别于 24、48、72、96 h 后取出,稀释为 $1 \times 10^{-1} \sim 1 \times 10^{-8}$ 不同浓度,每一浓度接种 4 孔,每孔 0.1 mL 分别接种于 96 孔已长好的 HeP-2 细胞中。放于 37 °C、5% CO₂ 孵箱中培养,96 h 后判断结果。以横坐标为不同感染持续时间 (h) 和纵坐标为病毒滴度 lgx (lgx = n, n 个滴度即 TCID₅₀ 病毒含量为 10^n /mL) 绘制病毒复制曲线。

以上实验均设病毒对照组、药物组、细胞对照组、病毒唑阳性药物对照组,实验重复 2 次。

3 结果

3.1 药物对细胞 TC₅₀ 测定:新雪颗粒的 TC₅₀ 为 21.25 g/L,病毒唑 TC₅₀ 125.5 mg/L。在此质量浓度以上时,细胞萎缩、空泡或脱落。

3.2 药物对病毒所致 CPE 的抑制作用:在新雪颗粒质量浓度为 3.91 g/L 时,能完全抑制病毒所致病变。阳性药病毒唑 0.25 mg/L 时能完全抑制病毒所致病变 (表 1)。

3.3 对病毒感染的预防作用:药物对病毒感染的预防作用研究表明,新雪颗粒与细胞作用 24 h 后,并无明显的阻断病毒侵入细胞的作用 (表 1)。

3.4 对病毒感染的治疗作用:病毒对照组在第 4 天细胞全部出现 CPE,而新雪颗粒质量浓度在 15.62 g/L 时能完全阻止病毒复制,新雪颗粒质量浓度为

7.81 g/L 时,能阻止 75% 细胞出现 CPE (结果见表 1)。

表 1 新雪颗粒对 RSV 致 HeP-2 细胞病变的防治作用
Table 1 Preventive and therapeutic effect of Xinxue Granule on HeP-2 cytopathy induced by RSV

组别	$\rho / (g \cdot L^{-1})$	RSV 病毒致细胞病变程度		
		抑制作用	治疗作用	预防作用
病毒对照	—	++++	++++	++++
病毒唑	5×10^{-4}	—	—	—
新雪颗粒	1.95	++	+++	+++
	3.91	—	+++	+++
	7.81	—	+	+++
	15.62	—	—	++

3.5 对病毒的直接杀伤作用:结果表明,新雪颗粒与 RSV 病毒混合液作用 12 h 后,使 RSV 的感染力明显减弱,其病毒感染滴度为 1.50,未加药物的病毒对照组细胞全部出现 CPE,其病毒感染滴度为 3.00。

3.6 阻止病毒复制的动力学测定:RSV 对照组于 72 h 达高峰,TCID₅₀ 病毒滴度为 $10^{7.00}$ /mL,此时实验组已下降 2.67 个对数值 (即 TCID₅₀ 滴度为 $10^{4.33}$ /mL) (见图 1)。从图中可以看出 RSV 在加入新雪颗粒后,病毒复制动力学明显改变,48 h 后与对照组比较下降 2 个对数值,说明药物有效地抑制了病毒的增殖。

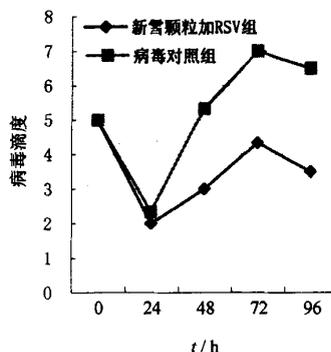


图 1 新雪颗粒对 RSV 复制的抑制作用

Fig. 1 Inhibition of Xinxue Granule on RSV replication

4 讨论

目前对 RSV 感染的治疗存在着诸多争议,但已普遍认同在高危患儿中应用被动免疫药物 RSV-IGIV 和 palivizumab 防治 RSV 感染或用病毒唑等,疗效并不肯定^[3,4],也无效果可靠的疫苗。所以开发研制安全可靠的防治 RSV 感染的新药,仍是目前国际上有待解决的重要课题之一。由于中药在国内防治病毒性疾病中应用广泛,效果肯定,所以从中药中寻找抗 RSV 药物不啻是一条行之有效的简便方法。

新雪颗粒是著名的清热解暑中成药,由广州奇星药业有限公司于 20 世纪 70 年代研制成功并生产至今,现为国家中药保护品种,全国中医急诊必备中成药,《国家基本医疗保险药品目录》乙类药品,2003 年还被国家选定为抗非典 8 个中成药之一。近年来的进一步研究发现,它具有多方面药理活性,对感染性疾病有明显的临床治疗效果。有文献报道,新雪颗粒的组成药物穿心莲^[5]、竹叶卷心^[6]、牛黄^[7]、栀子^[8]等都有明确的抗病毒作用。为了更好地开发利用传统名优中成药发挥中药抗生素的作用,本实验对其进行了体外抗 RSV 的治疗、预防和中和实验研究。结果表明新雪颗粒确有体外抑制、中和 RSV 作用,其机制与直接杀伤病毒和保护细胞免受损害有关,这为今后更广泛地应用本品防治上呼吸道感染提供了药理依据。

References:

[1] Shay D K, Behrman R E, Symon L, et al. Bronchiolitis-associated hospitalizations among US children, 1980-1996 [J]. *JAMA*, 1999, 282(5): 1275-1280.
 [2] Liu G R. Advances in studies on prevention and treatment to

infection of respiration syncytial virus [J]. *Chin J Pract Pediatr* (中国实用儿科杂志), 2001, 16(7): 435-436.
 [3] Kimpen J L, Gehrisch S. Treatment of respiratory syncytial virus bronchiolitis: 1995 poll of members of the European society for paediatric infection diseases [J]. *Pediatr Infect Dis J*, 1997, 16(5): 479-482.
 [4] Moler F W, Steinhart C M, Ohmit S E, et al. Effectiveness of ribavirin in otherwise well infants with respiratory syncytial virus-associated respiratory failure [J]. *Pediatrics*, 1996, 128: 422-428.
 [5] Zhang Q W, Zhang C Y. The recent advances in Studies of antiviral Chinese medicines [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2005, 27(1): 116-119.
 [6] Wang Q, Liu C Y. Experimental research of Xiao er Tui re Liquid on anti-virus effect and inhibiting bacterial action [J]. *Hubei J Tradit Chin Med* (湖北中医杂志), 2002, 24(4): 49.
 [7] Qiao M, Wang J, Li J L, et al. Experimental research on the antiviral function in vitro Qingre Kanggan Mixture [J]. *Chin J Inf Tradit Chin Med* (中国中医药信息杂志), 2005, 12(10): 18-19.
 [8] Na S, Guo G T. Advances in pharmacological studies on *Gardenia jasminoides* Ellis and its effective ingredients [J]. *Chin J Inf Tradit Chin Med* (中国中医药信息杂志), 2005, 12(1): 90-92.



《药物分析杂志》2007 年征订启事

《药物分析杂志》是由中国科学技术协会主管,中国药学会主办,中国药品生物制品检定所编辑出版的学术性期刊。主要栏目有研究论文、交流、综述等。报道化学药物、中药与天然药物、抗生素、蛋白质、多肽类药物、生物技术药物等的分析、质量标准研究、临床药物分析、药物分析基础理论与实践以及新方法、新技术的应用,并及时报道国家重大研究课题的最新成果。

本刊为我国自然科学核心期刊,被国内外主要检索系统收录。坚持质量第一、面向广大读者,以其独具的深度与广度展示我国药物分析的现状与发展。

本刊 2005 年开始由双月刊改为月刊,大 16 开本,每期 96 页,国内外公开发刊。每期定价 15 元,全年定价 180 元,国内邮发代号:2-237,国外读者请同中国国际图书贸易总公司(中国国际书店,北京 399 信箱)联系。欢迎广大读者到当地邮局订阅,并欢迎有关专业人员集体订购,价格从优。希望为本刊推广发行者,价格另议。

地址:北京市天坛西里 2 号(100050) 联系人:刘小帅
 电话:(010) 67058427 传真:(010) 67012819 E-mail: ywfx@nicpbp.org.cn

《中国天然药物》2007 年征订启事

《中国天然药物》(*Chinese Journal of Natural Medicines*)是由中国药科大学主办、国家教育部主管的国家级药学期刊,2003 年 5 月创刊。本刊以科学前沿与国家战略需求相结合,以报道来自天然产物的先导化合物的发现及其药效为重点,旨在通过多学科基础与应用基础研究,为具有我国独特优势的中药、草药、海洋药物、生化药物、微生物药物、民族药物、民间药物的创新研究提供学术载体,是我国天然药物研究领域进行国内外交流的重要窗口。

本刊主要报道天然药物学科创新性成果,辟有思路与方法、综述、论文、简报、技术交流、快报、药事法规等栏目;登载中药学、天然药物化学、药剂学、药物分析学、药理学、毒理学、生物化学、微生物学、分子生物学及其相关学科的研究原著,刊物体现了前沿性、权威性、学术性、科学性、可读性的特点。

本刊为双月刊,A4 开本,80 页,逢单月 20 日出版,国内外公开发刊。国内定价每期 15 元,全年 90 元。国内统一刊号:CN 32-1708/R,国际连续出版物号 ISSN:1672-3651。欢迎到当地邮局订阅,邮发代号:28-306,漏订者可向编辑部补订。

地址:南京市董家巷 24 号《中国天然药物》编辑部(210009)
 电话:(025) 83271565/8 传真:(025) 83271229
 电子信箱: zgtryw@sohu.com zgtryw@cpu.edu.cn 网址: http://zgtr.chinajournal.net.cn