

研究中,通过对摄取因素的考察,结果表明浓度在 $10\sim 40\ \mu\text{mol/L}$,熊果酸摄取不存在饱和现象,主要为被动摄取的过程。此外,若在整个浓度范围内测得的 P_{app} 值保持恒定,则被动扩散为主要转运机制。在跨细胞膜转运实验中,若 $P_{\text{appAP}\rightarrow\text{BL}}$ 与 $P_{\text{appBL}\rightarrow\text{AP}}$ 相等,可初步认为被动扩散为受试药物的主要转运机制,若PDR值大于1.5,则提示除被动转运外,可能还存在主动转运^[9]。 P -糖蛋白和多药耐药蛋白是Caco-2细胞中两种主要的转运蛋白,两者均能发挥外排泵作用,能将细胞内的化合物逆浓度梯度运至细胞外。其中 P -糖蛋白是一种由ATP依赖性MDR基因编码的相对分子质量为170 000的膜蛋白,存在于细胞AP端的细胞膜上,能将药物从肠浆膜转到肠黏膜而排入肠腔,从而导致药物吸收量减少。维拉帕米是 P -糖蛋白专属性抑制剂,因此通过对熊果酸在抑制剂维拉帕米存在与否时的跨膜转运试验,其结果表明在转运介质中加入维拉帕米后,熊果酸跨膜转运吸收方向的 $P_{\text{appAP}\rightarrow\text{BL}}$ 明显上升,而其分泌方向的 $P_{\text{appBL}\rightarrow\text{AP}}$ 则有所下降,PDR由3.445下降至1.386,提示 P -糖蛋白可能参与了熊果酸的外排转运过程,熊果酸可能是 P -糖蛋白的底物,但这是否为本实验中 $P_{\text{appBL}\rightarrow\text{AP}}$ 大于 $P_{\text{appAP}\rightarrow\text{BL}}$ 的原因,还有待后续研究来进一步验证。综合本实验研究结果,初步表明熊果酸体外摄取转运过程是以被动转运为主,同时存在 P -糖蛋白介导主动转运参与的过程。

Caco-2细胞模型作为药物吸收研究的体外模型,是一种快速的筛选工具^[10,11],可以阐明药物分子的转运机制以及确定某些影响药物转运特性的结构特征,为药物的体外药物动力学研究提供了广阔的前景,同时也有助于改善药物的转运特性,以便增

加其吸收。特别是在中国传统药物的研究方面,由于大部分中药的具体吸收成分和机制还未明确,因此本实验建立的Caco-2细胞模型在中药口服吸收研究方面具有广泛的应用前景,对中药现代化具有重要意义。

参考文献:

- [1] 王 鹏,张忠义,吴 忠,等.熊果酸在药用植物中的分布及药理作用[J].中草药,2000,23(11):717-722.
- [2] 程晓华,熊玉卿.五环三萜皂苷的药理作用研究进展[J].中草药,2007,38(5):792-795.
- [3] Jeong H G, Kim H G, Hwang Y P. Involvement of cytokines in the hepatic expression of metallothionein by ursolic acid[J]. *Toxicol Lett*, 2005, 155: 369-376.
- [4] Yan F L, Wang A X, Jia Z J. Pentacyclic triterpenoids from *Aster ageratoides* var. *pilosus* [J]. *Pharmazie*, 2004, 59(11): 882-884.
- [5] Liao Q F, Yang W, Jia Y, et al. LC-MS Determination and pharmacokinetic studies of ursolic acid in rat plasma after administration of the traditional Chinese medicinal preparation Lu-Ying extract [J]. *Yakugaku Zasshi*, 2005, 125(6): 509-515.
- [6] Van Breemen R B, Li Y. Caco-2 cell permeability assays to measure drug absorption [J]. *Exp Opin Drug Metab Toxicol*, 2005, 1(2): 175-185.
- [7] Balimane P V, Chong S. Cell culture-based models for intestinal permeability: a critique [J]. *Drug Discov Today*, 2005, 10(5): 335-343.
- [8] He Y, Zeng S. Determination of the stereoselectivity of chiral drug transport across Caco-2 cell monolayers [J]. *Chirality*, 2006, 18(1): 64-69.
- [9] 胡晓渝,姚彤炜,曾 苏. Caco-2细胞系及其在药物吸收、代谢中的应用[J].中国现代应用药学杂志,2002,19(2): 88-90.
- [10] 杨秀伟,张 鹏,吴 琦.羌活中二氢呋喃类香豆素在人源肠Caco-2细胞单层模型的吸收转运研究[J].中草药,2009,40(5): 748-753.
- [11] 卢智玲,冯 怡,徐德生,等. Caco-2细胞模型在中药口服吸收及机制研究中的应用[J].中草药,2006,37(4): 616-619.

禹白附提取物抗 HIV 病毒的实验研究

温瑞兴*,马洪涛,王晓艳,王 霞,杨怡姝,王小利

(北京工业大学生命科学与工程学院,北京 100124)

摘 要:目的 研究白附子提取物抗 HIV-1 的作用,寻找新型高效的抗 HIV-1 中药先导化合物。方法 采用植物化学技术对白附进行提取分离,再通过细胞生物学方法[细胞病变观察法(CPE)法和 MTT 法]检验提取物的抗 HIV-1 作用,并结合作用靶点的研究对提取物的作用机制进行探讨。结果 发现禹白附提取物具有很好的抗

收稿日期:2009-03-21

基金项目:北京市自然科学基金资助项目(7092007)

作者简介:温瑞兴(1953—),男,北京人,研究员,硕士生导师,长期从事药理学、抗病毒药理学研究和教学工作,发表论文40余篇,获国家、省部级奖(参加)两项。 Tel: (010) 67391668 Fax: (010) 67392001 E-mail: rxwen@bjut.edu.cn

*通讯作者 温瑞兴 Tel: (010) 67391668 E-mail: rxwen@bjut.edu.cn

HIV-1 作用,筛选出 3 个抗 HIV-1 作用显著的有效部位,其中两个有效部位的作用靶点分别为 HIV-1 的 gp-41 跨膜蛋白和 Vif 表达蛋白。结论 禹白附提取物具有很强的抗 HIV-1 作用,为进一步寻找高效低毒的抗 HIV-1 先导化合物奠定了基础,值得进行深入研究。

关键词:禹白附;抗 HIV 作用;CPE 检测法;p24 抗原检测法;作用机制

中图分类号:R286.1 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2009)12-1939-05

Experimental study on anti-HIV activities with extract from tuber of *Typhonium giganteum*

WEN Rui-xing, MA Hong-tao, WANG Xiao-yan, WANG Xia, YANG Yi-shu, WANG Xiao-li

(College of Life Science and Bioengineering, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China)

Abstract: Objective To study the effect of anti-HIV-1 virus with extracts from the tuber of *Typhonium giganteum*, so as to discover new and high efficient anti-HIV-1 leading compounds from natural products and Chinese materia medica. **Methods** Extract from the tuber of *T. giganteum* was isolated and purified by the way of phytochemistry, such as column chromatography. Then anti-HIV-1 activities of the extracts were assessed by *in vitro* method, MT4 cells and HIV III B virus were used for the experiment. The results were judged by cytopathic effect (CPE) method and p24 antigen assay method. Mechanism studies were carried out by BIA techniques (BIAcore® 3000 molecule coupled equipment). **Results** The extracts of *T. giganteum* showed potential anti-HIV-1 activities. Two of them showed gp-41 transmembrane protein and Vif protein expression inhibition, respectively. **Conclusion** These extracts in the tuber of *T. giganteum* might rewardingly contribute to anti-HIV-1 activities, which could be developed to be more efficient and less toxic leading compounds in the further.

Key words: the tuber of *Typhonium giganteum* Engl.; anti-HIV activity; CPE rating method; p24 antigen assay method; mechanism

禹白附,别名白附子、独角莲、疗毒豆等,为天南星科植物独角莲 *Typhonium giganteum* Engl. 的块茎;其性大温,味辛、甘,有毒;归胃、肝二经;能镇痉止痛,祛风痰。治中风失音、心痛血痹、偏正头痛、喉痹肿痛、破伤风、解毒、通络^[1]。研究表明其含有多种氨基酸、内消旋肌醇、 β -谷甾醇及其葡萄糖苷、胆碱、白附子凝集素等。禹白附具有抗结核杆菌、抗凝血以及镇痛的作用,临床上可用于治疗颜面神经麻痹、风痰中络、口喎失语、半身不遂、破伤风、肿痛疔疮、毒蛇咬伤以及颈淋巴结核等。由于在 2003~2005 年抗击非典期间发现禹白附具有明显的抗 SARS 作用,所以本实验欲将其试用于 HIV 研究,以期发现具有潜在艾滋病治疗作用的中药。

1 材料

1.1 药物与试剂:禹白附原药购于河南省三门峡市卢氏县卢氏中药材总公司;阳性对照药立妥威(AZT)购自 Sigma 公司;RPMI 1640 培养基、进口特优胎牛血清 Gibco 公司;p24 抗原检测试剂盒购自荷兰生物梅里埃(bio Merieux bv)公司;gp 41 融合蛋白、vif 因子由本室自行表达提纯;Sephadex LH-20、ODS 反相硅胶为 Sigma 公司产品;HPD-450 大孔树脂购自河北沧州宝恩化工有限公司;N-羟基丁二酰亚胺(NHS)和乙基[3-(二甲氨基)丙基]碳二亚胺盐酸盐(EDC)购自美国 GE 公司。

1.2 仪器:SG403/SG603 生物安全柜购自美国贝克公司(Baker Steril GARD® III Advance Model);Elite II CO₂ 培养箱(Revco 公司);XDS-1B 倒置显微镜(重庆光学仪器厂);CK40 相差显微镜(Olympus 公司);BIAcore® 3000 分子偶连仪购自美国 GE 公司,微量加样器(Gilson),Model-550 酶标仪、Model-1575 洗板机 BIO-RAD 公司,Stuart RE300 旋转蒸发仪购自英国 Bibby Sterilin 有限公司。

2 实验方法

2.1 药物制备:鲜药洗净,切成丝状,装入密封瓶内,1 000 g/瓶,分别加入 5 000 mL 30%、50%、70%、95% 乙醇,浸泡过夜,次日倒出药液,离心 2 000 r/min,5~10 min,取上清,旋干,分别得到水和不同体积分数乙醇提取物。称取适量 30% 乙醇提取物(柱床体积的 1/100),用去离子水溶解,1 500 r/min 离心 5~10 min,取上清进行 HPD450 大孔吸附树脂柱色谱,依次用不同体积分数的乙醇溶液进行洗脱,收集各洗脱液,旋干备用。称取 30% 乙醇洗脱样品(A) 300 mg,50% 乙醇洗脱样品(B) 200 mg,用少量洗脱液溶解样品,分别进行葡聚糖凝胶 LH-20 柱色谱,20 滴/min,10 mL/流份,旋干备用。根据色谱结果进行合瓶并作药效学检测。得到有效部位 A3 和有效部位 B6。称取 A3 150 mg,用去离子水溶解,0.2 μ m 滤器滤过,进行

ODS 反相柱色谱,依次用水,水-甲醇(8:2、6:4、4:6、2:8),纯甲醇进行洗脱,收集各洗脱液,旋干备用。经药效学检验 A302 为较纯的有效部位。

2.2 细胞毒性实验:本实验采用两种方法测定药物对细胞的毒性:细胞病变观察法(CPE法)和MTT法^[2]。细胞病变观察法与抗 HIV-1 病毒实验法相同,只是实验时不加 HIV 病毒,根据细胞的形态和发生病变的情况评判结果,其判定标准为:细胞全部出现病变:++++;50%~70% 细胞出现病变:+++;25%~50% 细胞出现病变:++;25% 以下出现病变:+;没有病变:-。取低于 25% 细胞病变的剂量作为最大药效学实验剂量。

2.3 细胞培养、病毒培养、病毒滴定和抗 HIV-1 药物实验法及结果评判参考文献方法^[3],实验分为给药组、病毒对照、阳性对照药立妥威和正常细胞对照组;本实验采用 200TCID₅₀ 的 HIV III B 病毒与 MT4 细胞 2.5×10^4 个/孔混合培养,置 5% CO₂ 培养箱 37℃ 培养 3 d,第 3 天后换药 1 次,于第 6 天用 CK40 相差显微镜对细胞形态变化进行显微照相,再用 CPE 和 p24 抗原测定法对结果进行评判。实验数据按此公式计算:IR = $[1 - (CC - TG) / (CC - VC)] \times 100\%$,IR 为抑制率,CC 为细胞对照存活率,VC 为病毒对照存活率,TG 为实验组存活率,当细胞对照生长正常,设定 CC 组的活细胞数为 100% 存活率,其余各实验组和 VC 组的细胞存活率都应该低于细胞对照组,是 1 以下相应小数。根据图像结果对各组的活细胞数进行百分率估算。

2.4 作用机制研究^[4~6]:BIA (biomolecular interaction analysis) 技术是基于一种称为表面等离子共振(surface plasma resonance, SPR)的物理光学现象发展起来的新型生物传感分析核心技术,通过监测传感芯片(sensor chip)表面与所结合生物分子质量成正比的液体折射率的变化,来实时跟踪生物分子间的相互作用来实现,因而不需任何标记物。实验时只需先将一种生物分子(配体)固定在传感芯片表面,再使之与相互作用的分子(分析物)溶液通过微射流卡盘(IFC)流过芯片表面,检测器就能实时检测出芯片固定分子和溶液中分子之间有无相互作用、亲合和解离的快慢程度、结合的强度及位点等多方面的信息。实验时先将目标靶点蛋白(HIV-1 gp41 等)用 pH 5.0 醋酸钠缓冲液配制成 20 μg/mL 的溶液。按照 Biacore 3000 偶联仪的操作规程,将其偶联到 CM5 芯片(50 nm 金属薄膜表面吸附有羧甲基葡聚糖);先用 NHS/EDC 活化芯

片的葡聚糖表面,再与目标靶蛋白偶联,最后再用盐酸乙醇胺(浓度 1.0 mol/L, pH 值为 8.5)将表面残留的活化基团封闭。

精密称取适量待测样品,置于艾本德小离心管中,加入适量的 PBS 溶液,配成 1 000 μg/mL 的溶液,反复吹打使溶解后,立即用 0.22 μm 微孔滤器滤过,用滤过的 PBS 将样品倍比稀释并脱气处理,同法处理对照品。用 PBS 溶液缓慢冲洗偶联有靶点蛋白的 CM5 芯片,当基线平稳后,加入待测样品,Biacore 3000 偶联仪自动进行检测,检测后用适量的洗脱剂洗下芯片表面结合的样品,使芯片再生保持活性。检测结束机器自动储存传感图谱,对于蛋白质分析来说,1RU (反应单位)的变化等价于芯片表面结合物质的浓度改变了 1 pg/mm²。

2.5 统计学方法:病毒滴度 TCID₅₀ 采用 Reed Muench 方法确定,其余数据如半数抑制浓度(IC₅₀)、半数中毒浓度(TC₅₀)、χ²检验(P值)根据 BLISS 法进行计算。

3 实验结果

3.1 细胞病变效应法结果:细胞病变效应法根据图 1 评判结果,由图 1 可见葡聚糖凝胶 LH-20 提取物 A3、B6 和 ODS 反相硅胶提取物 A302 均具有很好的抗 HIV 病毒的作用,结果见表 1。

3.2 p24 抗原检测结果:见表 2。

3.3 不同提取物的治疗指数:结果见表 3。

3.4 作用靶点研究结果:禹白附有效部位与靶点蛋白的结合情况:见表 4。

4 讨论

4.1 细胞病变效应法结果发现有效部位 A3、B6、A302 均具有较好的抗 HIV 病毒作用,当样品质量浓度在 125 μg/mL 时的病毒抑制率分别为 71.43%、78.57%、78.57%,统计学差异显著($P < 0.001$);将 A302 的质量浓度增加到 500 μg/mL 时,对病毒的抑制率没有增加,反而有所降低,仅为 71.43%,说明其抗病毒作用达到饱和,增加药物质量浓度不增加疗效,反而增加细胞毒性,所以高质量浓度不宜再增加,应该探索中间剂量,以求最佳实验效果。

p24 抗原检测结果,实验药物的剂量必须选择最大无毒剂量以下的浓度,保证结果不受药物的毒性干扰。p24 抗原测定法与 CPE 检测法的结果基本一致或趋势基本一致,样品 A3、B6、A302 依然具有明显的抗 HIV 效果,当样品质量浓度在 125 μg/mL 时对病毒的抑制率分别为 42.02%、73.71%、

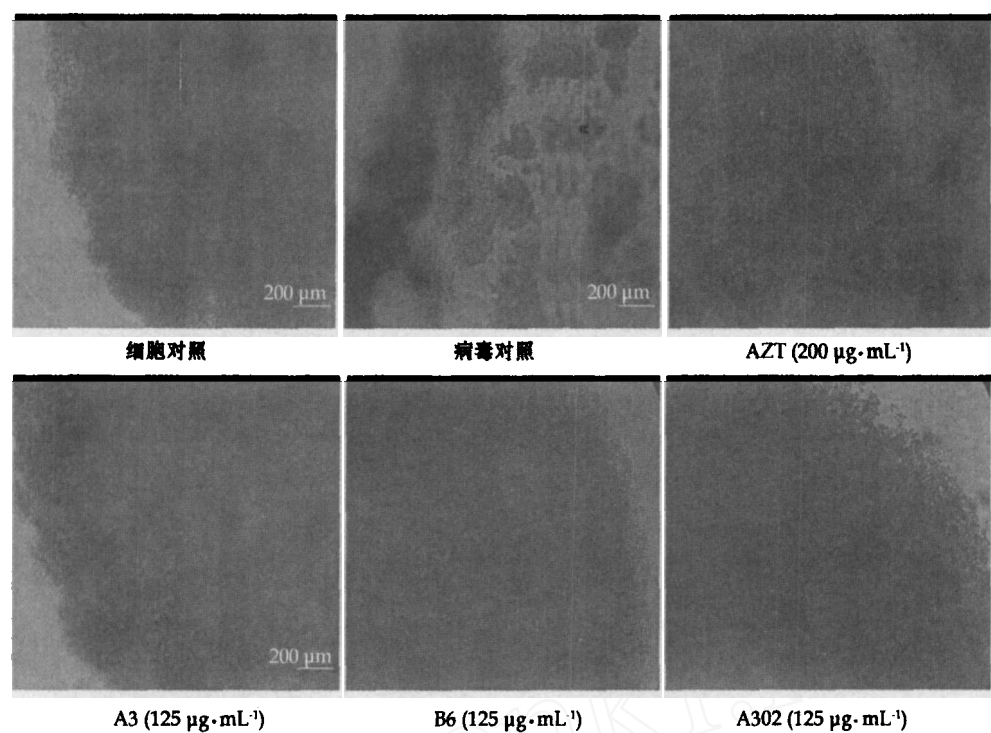


图 1 禹白附提取物抗 HIV-1 Ⅱ B 病毒作用

Fig. 1 Antivirus effect with extracts from tuber of *T. giganteum* on HIV-1 Ⅱ B

表 1 禹白附提取物对 HIV-1 Ⅱ B 的抑制作用 (CPE 检测法)

Table 1 Inhibition of extracts from tuber of *T. giganteum* on HIV-1 Ⅱ B (CPE rating method)

组别	$\rho/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	相对活细胞数/%	病毒抑制率/%
A3	125	80	71.43***
	31.25	75	64.29***
	7.813	55	35.71***
B6	125	85	78.57***
	31.25	70	57.14***
	7.813	45	21.43***
A302	500	80	71.43***
	125	85	78.57***
	31.25	60	42.86***
	7.813	45	21.43*
AZT	200	95	92.90***
细胞对照	—	100	100
病毒对照	—	30	0

与病毒对照比较: * $P<0.05$ *** $P<0.001$

* $P<0.05$ *** $P<0.001$ vs virus control

表 2 禹白附提取物对 HIV-1 Ⅱ B 的抑制作用 (p24 抗原检测法)

Table 2 Inhibition of extracts from tuber of *T. giganteum* on HIV-1 Ⅱ B (p24 antigen assay method)

组别	$\rho/$	吸光度值	HIV-1 p24	病毒抑
	$(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	(450 nm/630 nm)	抗原/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	制率/%
A3	125	0.745	49.469 2	42.02***
	31.25	0.515	30.334 4	64.45***
	7.812 5	0.550	33.246 3	61.04***
B6	125	0.420	22.430 9	73.71***
	31.25	0.510	29.918 5	64.94***
	7.812 5	0.787	52.963 4	37.93***
A302	500	0.458	25.592 3	70.01***
	125	0.408	21.432 6	74.88***
	31.25	0.717	47.139 8	44.75***
细胞对照	—	0.129	—	100
病毒对照	—	1.176	85.326 1	0

与病毒对照比较: *** $P<0.001$

*** $P<0.001$ vs virus control

表 3 禹白附提取物的治疗指数 (TI)

Table 3 TI of extracts from tuber of *T. giganteum*

样品	$\text{TC}_{50}/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	$\text{IC}_{50}/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	TI
A3	1 606.02	74.28	21.62
B6	676.15	15.51	43.59
A302	1 138.12	27.61	41.22

表 4 禹白附有效部位与作用靶点的结合情况

Table 4 Combination of active fraction from tuber of *T. giganteum* and target

样品名称	vif/RU		gp41/RU		
	20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	500 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
A	—	2.5	7.8	15.6	54.6
A3	—	18.4	21.9	31.1	52.4
A302	69.6	16.2	22.2	27.8	25.1
B	—	21.6	32.8	67.4	151.1
B6	59.7	—	—	—	—

74.88%, 统计学差异显著 ($P<0.001$); 其中 A3 对病毒的抑制率比其他两个样品偏低, 约为 42.02%, 但细胞数量和细胞形态都很正常, 估计是药物对 p24 抗原试剂盒的某些化合物产生了作用, 影响了结果的灵敏度, 剂量降低 4 倍后 (31.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 抗病毒作用反而增强, 约为 64.45%, 与细胞病变效应法的结果相似, 说明药物质量浓度直接影响了试剂盒的灵敏度。可见 p24 抗原试剂盒检测法也有一定的局限性。另一方面, 从实验结果的一致性可以看出两种检测方法具有很好的相关性。说明 CPE 法依然具有很好的使用价值, 与 p24 抗原检测法相比, 方法学的灵敏度不次于后者, 但其直观、省时

省力省钱和降低操作危险等诸多因素,都明显超过 p24 抗原检测法。所以 CPE 检测法在抗 HIV 病毒的研究中依然可以担当主力,应该得到应有的重视。

4.2 禹白附 3 个主要有效部位的 TI 分别为 21.62、43.59、41.22;按照 2006 年 1 月国家药监局药审中心公布的《抗 HIV 药物非临床药效学研究技术指导原则》条例, TI 大于 10 的药物可能具有体外抗 HIV 活性,也就是说 TI 大于 10 的药物才具有研究价值;不难发现,禹白附 3 个有效部位的 TI 都远远超过 10,按照指导原则的规定,这些有效部位都具有体外抗 HIV 活性,都具有相当的研究价值,预计经过适当的深入研究以后,能够得到较好的抗 HIV 先导化合物。

4.3 禹白附的有效部位与作用靶点的结合情况可见有效部位 B 与 gp41 有较好的偶联,在较低质量浓度如 50、100 $\mu\text{g/mL}$ 与 gp41 融合蛋白结合较弱,质量浓度增高其偶联作用加强,并且呈现剂量效应关系,在 500 $\mu\text{g/mL}$ 时,与 gp41 的偶联量为 151.1 RU,结果提示 HIV-1 gp41 融合蛋白可能是有效部位 B 的作用靶点之一。有效部位 A、A3 的情况基本相似于有效部位 B,而有效部位 A302 与 gp41 的偶联作用不明显,提示其作用靶点可能是 HIV 复制的其他环节。有效部位 B6、A302 与 vif 蛋白有

较好的偶联,即使质量浓度较低时,如 20 $\mu\text{g/mL}$ 二者与 vif 的偶联仍然很好,偶联量分别为 59.7 和 69.6 RU,说明 B6 和 A302 对 HIV-1 vif 靶蛋白有作用,提示 vif 可能分别为 B6 和 A302 的作用靶点之一。一种中药的多种成分分别对同一种疾病的不同靶点发挥作用,对增强疗效是有益的。

4.4 药物毒性问题:各种药典及民间一直认为禹白附有大毒,轻易不敢用其治病。但其具体毒性仍需进一步研究。

参考文献:

- [1] 《全国中草药汇编》编写组. 全国中草药汇编 [M]. 北京:人民卫生出版社, 2000.
- [2] Carmichael J, DeGraff W G, Gazdar A F, *et al.* Evaluation of a Tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay: assessment of chemosensitivity testing [J]. *Cancer Res*, 1987, 47: 936-942.
- [3] 刘兆梅, 温瑞兴, 马洪涛, 等. 胡桃提取物抗 HIV-1 病毒的初步研究 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(21): 2535-2538.
- [4] Markgren P O, Lindgren M T, Gertow K, *et al.* Determination of interaction kinetic constants for HIV-1 protease inhibitors using optical biosensor technology [J]. *Anal Biochem*, 2001, 291(2): 207-218.
- [5] Markgren P O, Hamalainen M, Danielson U H. Screening of compounds interacting with HIV-1 proteinase using optical biosensor technology [J]. *Anal Biochem*, 1998, 265(2): 340-350.
- [6] Markgren P O, Hamalainen M, Danielson U. Kinetic analysis of the interaction between HIV-1 protease and inhibitors using optical biosensor technology [J]. *Anal Biochem*, 2000, 279(1): 71-78.

热毒宁注射液对禽流感病毒的抑制作用

萧伟¹, 刘涛^{1,2}, 陈仕兰³, 孙兰¹, 王振中^{1*}

(1. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001; 2. 成都中医药大学, 四川 成都 610075;
3. 中国农业科学院哈尔滨兽医研究所 农业部动物流感重点开放实验室, 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要:目的 观察热毒宁注射液对 H5N1 亚型禽流感病毒的抑制作用。方法 采用 Klein-Defors 悬浮方法进行热毒宁注射液对 H5N1 亚型禽流感病毒的抑制作用试验,作用后以灭菌生理盐水对混合液进行 10 倍系列稀释,接种并检测感染鸡胚情况。结果 热毒宁注射液原液, 1:5、1:10、1:20 稀释液与 $10^{8.25}$ EID₅₀ H5N1 亚型禽流感病毒液作用 10 min, 病毒抑制率分别为 99.82%、43.76%、0.0;与 $10^{8.25}$ EID₅₀ H5N1 亚型禽流感病毒液作用 30 min, 病毒抑制率分别为 100%、99.94%、32.39%、0。结论 热毒宁注射液原液对 H5N1 亚型禽流感病毒较好的抑制作用。

关键词:热毒宁注射液; 禽流感病毒; 感染鸡胚

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)12-1943-03

禽流感 (avian influenza, AI) 是由禽流感病毒 (avian influenza virus, AIV) 引起的鸟类、禽类烈性传染病。AIV 由两种不同的糖蛋白构成, 一种为

血凝素 (hemagglutinin, H), 另一种为神经氨酸酶 (neuraminidase, N), H 有 1~15 个亚型, N 有 1~9 个亚型, H 与 N 组合的不同形成了不同类型的病