

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<sup>1</sup>, 刘涛<sup>1,2</sup>, 陈仕兰<sup>3</sup>, 孙兰<sup>1</sup>, 王振中<sup>1\*</sup>

(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 $10^{8.25}$  EID<sub>50</sub> 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 $10^{8.25}$  EID<sub>50</sub> 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(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

毒。其中 H5N1 型在 2004 年亚洲流行的禽流感中被鉴定为主要高致病流感病毒<sup>[1]</sup>。

禽流感病毒的致病机制<sup>[2]</sup>为人感染了禽流感病毒后,禽流感病毒侵入宿主一般分为 4 步:第 1 步病毒附着在宿主细胞上,病毒表面血凝素(H)介导病毒粒子与宿主细胞表面糖蛋白受体唾液寡聚糖结合;第 2 步病毒通过受体介导的内吞作用进入宿主细胞,而此侵入的基因含有复制病毒的指令;第 3 步病毒在宿主细胞中复制基因和病毒蛋白质;第 4 步新的病毒从宿主细胞中释放出来,而禽流感病毒表面的神经氨酸酶具有唾液酸酶活性,可促进新形成的病毒粒子从宿主细胞中释放出来,然后新一代病毒再感染新的宿主细胞,侵袭过程不断重复。本实验观察热毒宁注射液对 H5N1 亚型禽流感病毒的抑制作用,为临床应用提供依据。

## 1 材料

热毒宁注射液由江苏康缘药业股份有限公司生产,规格:10 mL/瓶,批号:050805。H5N1 亚型禽流感病毒由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暨国家禽流感参考实验室提供。10 日龄 SPF 鸡胚由中国农业科学院哈尔滨兽医研究所实验动物中心提供。

## 2 方法

2.1 病毒半数卵感染剂量( $EID_{50}$ )的测定:将 H5N1 亚型禽流感病毒 10 倍系列稀释,接种 10 日龄 SPF 鸡胚,每个稀释度 5 枚鸡胚(0.1 mL/胚),测定病毒的半数感染剂量  $EID_{50}$ 。

2.2 药物对鸡胚的最大无毒剂量:将热毒宁注射液原液,1:2、1:4、1:8、1:16、1:32、1:64 生理盐水稀释液分别接种 10 日龄 SPF 鸡胚,每个稀释度接种 5 枚鸡胚(0.1 mL/胚)。将接种的鸡胚置 37℃ 温箱中培养 96 h。24 h 以内死亡的鸡胚去掉,记录鸡胚死亡情况。

2.3 药物对病毒抑制作用:分别取  $10^{8.25} EID_{50}$  H5N1 亚型禽流感病毒悬液与热毒宁注射液原液,1:5、1:10、1:20 生理盐水稀释液按 1:9 混合,在  $(20\pm 1)^{\circ}C$  条件下作用 10、30 min 后,用灭菌生理盐水 10 倍递进稀释。对照组用灭菌生理盐水代替热毒宁注射液,同法处理;稀释液接种 10 日龄 SPF 鸡胚,每个稀释度接种 5 枚鸡胚(0.1 mL/胚)。将接种的鸡胚置 37℃ 温箱中培养,记录鸡胚死亡情况。24 h 以内死亡的鸡胚去掉,24 h 以后的鸡胚及时取出,至 96 h 全部取出,逐个取尿囊液进行血凝(HA)试验,血凝试验阳性者判为鸡胚感染。

按照鸡胚感染的结果,按下列方程式计算实验组和对照组鸡胚感染的阳性率、样本含  $EID_{50}$  量的对数与抑制率。

阳性率=血凝阳性鸡胚数/接种鸡胚数;样本含  $EID_{50}$  量的对数= $L-d(S-0.5)$ ( $L$  为最低稀释倍数的对数; $d$  为稀释度间对数的差; $S$  为各稀释列阳性率之和)

病毒抑制率=(对照样本含  $EID_{50}$  量-实验样本含  $EID_{50}$  量)/对照样本含  $EID_{50}$  量 $\times 100\%$

## 3 实验结果

3.1 药物对鸡胚的最大无毒剂量:热毒宁注射液原液,1:2、1:4、1:8、1:16、1:32、1:64 生理盐水稀释液各组鸡胚均无一死亡。表明热毒宁注射液对鸡胚无毒性。

3.2 药物对病毒抑制作用:热毒宁注射液原液,1:5、1:10、1:20 生理盐水稀释液与  $10^{8.25} EID_{50}$  H5N1 亚型禽流感病毒悬液作用 10 min,病毒抑制率分别为 99.82%、43.76%、0、0;与  $10^{8.25} EID_{50}$  H5N1 亚型禽流感病毒悬液作用 30 min,病毒抑制率分别为 100%、99.94%、32.39%、0。

## 4 讨论

中药抗流感病毒的基本原理是扶正祛邪或驱邪扶正。由于每味中药组成成分比较复杂,各组分之间相互作用,而组成中药方剂其作用机制更为复杂。目前,中药抗病毒的途径主要有 2 条:(1)直接抑制病毒,主要有阻断病毒繁殖过程的吸附、穿入、复制、成熟中的某一环节,从而达到抗病毒感染的目的;(2)间接抑制病毒,由于病毒感染人体后,必定寄生在人体的细胞中才能生存、繁殖,某些药物在抗病毒的同时,还能提高机体的免疫功能,通过促进机体的特异性和非特异性免疫功能而达到抑制病毒的目的,或是通过促进诱生干扰素作用等达到抗病毒的目的<sup>[3,4]</sup>。

热毒宁注射液由青蒿、金银花等组成,具疏风散热,清热解毒之功效,主要用于呼吸道感染引起的高热。药效学实验结果表明热毒宁注射液具有较强的解热作用,且可通过抑制发热动物脑脊液、血中环磷酸腺苷(cAMP)的升高和抑制内生致热白细胞介素-1(IL-1)的生成;对多种呼吸道病毒株致培养细胞病变均有明显抑制作用;对多种细菌菌株的生长亦有一定的抑制作用;另外具有较好的抗炎、增强机体的免疫功能,提高抗病力。

本实验发现,热毒宁注射液在体外可以抑制禽流感病毒在鸡胚上的增殖,从而保证了鸡胚的存活,具有一定抗禽流感病毒的作用,但是具体的抗禽流

感病毒机制还有待进一步的探讨。

#### 参考文献:

- [1] 陈执中. 天然药物抗病毒作用研究进展 [J]. 中国民族民间医药杂志, 2003 (6): 311-314.
- [2] 张 骁, 束梅英, 张 韬. 抗流感病毒药物的研究进展 [J]. 中国制药信息, 2000, 16(12): 3-8.
- [3] Huang H L, Dan H B, Zhou Y J, *et al.* Different neutralization efficiency of neutralizing monoclonal antibodies against avian influenza H5N1 virus to virus strains from different hosts [J]. *Mol Immunol*, 2006, 44: 1052-1055.
- [4] 黄亚东, 李燕梅, 曹永峰, 等. 莜术油复方口服液对禽流感病毒 H5N1 亚型的抑制作用和攻毒保护试验 [J]. 中国兽医学报, 2007, 27(6): 893-898.

## 前列康胶囊治疗良性前列腺增生多中心临床研究

刘树硕<sup>1</sup>, 刘 飞<sup>1</sup>, 王如伟<sup>2</sup>, 叶剑峰<sup>2</sup>, 吕 军<sup>2</sup>, 瞿 伟<sup>2</sup>, 虞旗旗<sup>3</sup>,  
杜传军<sup>4</sup>, 张士更<sup>5</sup>, 肖家全<sup>6</sup>, 林考兴<sup>7</sup>, 胡 可<sup>8</sup>

(1. 浙江中医药大学附属第一医院 泌尿外科, 浙江 杭州 310006; 2. 浙江中药与天然药物研究院, 浙江 杭州 310052;  
3. 杭州市中医院, 浙江 杭州 310007; 4. 浙江大学附属第二医院, 浙江 杭州 310009; 5. 浙江中医药大学附属  
第二医院, 浙江 杭州 310008; 6. 浙江省人民医院, 浙江 杭州 310014; 7. 中国人民解放军第 117 医院,  
浙江 杭州 310013; 8. 浙江省金华市市中医院, 浙江 金华 321017)

**摘 要:**目的 探讨前列康胶囊治疗良性前列腺增生的疗效和安全性。方法 采用多中心开放临床试验方法, 将 202 例门诊确诊的良性前列腺增生患者分为两组: 治疗组服用前列康胶囊, 每日 3 次, 每次 4 粒; 对照组服用前列舒乐胶囊。结果 给药 90 天, 两组间在最大尿流率、国际前列腺症状 (I-PSS) 评分及中医症状有效率差别均无显著性意义。结论 前列康胶囊明显改善良性前列腺增生患者的中医症状、最大尿流率和 I-PSS, 是一种安全有效的治疗前列腺增生的药物。

**关键词:**前列康胶囊; 良性前列腺增生; 多中心临床研究

**中图分类号:**R286.1 **文献标识码:**A **文章编号:**0253-2670(2009)12-1945-03

为验证前列康胶囊治疗良性前列腺增生的疗效, 本中心与其他多家中心合作于 2006 年 10 月至 2007 年 12 月, 采用多中心随机、开放、平行对照的方式对前列康胶囊进行临床试验研究, 共计完成病例 202 例。

### 1 资料与方法

#### 1.1 诊断标准

1.1.1 良性前列腺增生症西医诊断标准: 参照《国际协调委员会有关前列腺腺疾病患者诊断和治疗的推荐意见》制定本临床研究的病例入选标准<sup>[1]</sup>: 50 岁以上男性, 有尿频、排尿困难症状, 直肠指诊、B 超检查及尿流率检查确诊为前列腺增生。

1.1.2 中医候诊断标准: 证候: 肾阳虚衰证; 主症: 排尿困难, 滴沥不尽, 尿频、夜间尤甚, 甚或小便自溢而失禁。次症: 神情倦怠, 腰膝酸冷, 畏寒肢冷, 性功能减退, 舌淡体胖嫩, 苔薄白, 脉象沉细或沉迟。

1.2 排除标准: 有其他引起排尿障碍的疾病, 严重的糖尿病、心血管疾患以及肝肾功能不全者, 对花粉过敏者, 2 周内接受过前列腺增生药物及其他治疗者。

1.3 知情同意: 志愿受试, 获得知情同意书过程应

符合 GCP 规定。

1.4 研究方法: 采用随机、开放、阳性药物平行对照的临床研究, 治疗组患者口服前列康牌普乐安胶囊 (浙江康恩贝制药股份有限公司生产), 每次 4 粒, 一日 3 次。对照组患者给予前列舒乐胶囊由吉林省大峻药业股份有限公司生产, 每次 5 粒, 一日 3 次。按随机号产生 1~210 号编号, 采用中心分层、区组 2:1 随机分方法计划入组, 治疗组病例 140 例, 对照组病例 70 例。至临床结束时, 共完成入组治疗组患者 138 例, 对照组患者 64 例。

总共疗程共计 90 d, 分别与开始和第 90 天进行 B 超 (前列腺体积), 残余尿以及最大尿流率检测, 同时在试验第 1 天, 第 4 周末以及第 8 周末对患者进行国际前列腺症状评分 (I-PSS), 中医证候评分。以国际前列腺症状评分 (I-PSS)、中医证候评分以及最大尿流率测定作为主要疗效指标; 排尿症状对生活质量的等相关症状作为次要疗效指标。

#### 1.5 疗效判定标准

1.5.1 总体疗效标准: 显效: 治疗后最大尿流率改善  $\geq 3$  mL/s, 或 I-PSS 评分降低 60%; 有效: 治疗后