

## 鱼腥草注射液体内抗流感病毒药效学研究

刘方舟<sup>1,2</sup>, 时 瀚<sup>1</sup>, 时宇静<sup>1</sup>, 刘 颖<sup>1</sup>, 金亚宏<sup>1</sup>, 高英杰<sup>1</sup>, 郭姗姗<sup>1</sup>, 崔晓兰<sup>1\*</sup>

(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 2. 江西中医学院, 江西 南昌 330004)

**摘要:** 本研究评价新、老两种鱼腥草注射液制剂在体内对 H1N1 流感病毒感染的防治作用。采用甲型 H1N1 流感病毒 FM1 和 PR8 株, 滴鼻感染正常小鼠和免疫低下小鼠造成肺炎模型, 分别进行治疗性和预防性给药, 观察小鼠肺指数。结果显示: 鱼腥草注射液新、老两种制剂对两种流感病毒感染引起的小鼠肺部炎症均有明显治疗作用, 且小剂量时新制剂对 FM1 株治疗作用优于老制剂; 新、老两种制剂对两种病毒感染免疫低下小鼠引起的肺部炎症有明显预防作用, 且小剂量时老制剂对 PR8 病毒株的预防作用优于新制剂。鱼腥草注射液可改善流感病毒感染引起的小鼠肺炎症状, 降低 H1N1 感染小鼠的肺指数, 在体内对 H1N1 流感病毒感染有较好的防治作用。

**关键词:** FM1 毒株; PR8 毒株; 甲型流感病毒 H1N1; 鱼腥草注射液

中图分类号: R965

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2010) 03-0399-04

## Pharmacodynamic experiment of the antiviral effect of Houttuynia Cordata Injection on influenza virus in mice

LIU Fang-zhou<sup>1,2</sup>, SHI Han<sup>1</sup>, SHI Yu-jing<sup>1</sup>, LIU Ying<sup>1</sup>, JIN Ya-hong<sup>1</sup>, GAO Ying-jie<sup>1</sup>,  
GUO Shan-shan<sup>1</sup>, CUI Xiao-lan<sup>1\*</sup>

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

2. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

**Abstract:** It is to investigate the effect of two kinds of Houttuynia Cordata Injection on preventing and treating H1N1 influenza virus infection in mice. Pneumonia model was set up by intranasal infection of the normal and immunocompromised mice with influenza virus FM1 and PR8. The two injections were administered before and after the administration of virus, separately, and the lung index was observed. The results showed that the two preparations have obvious therapeutic effect on normal mice infected with influenza virus FM1 and PR8. And to FM1, the new injection's effect is better at small dosage. The results also showed that the two preparations have obvious prophylactic effect on immunodepressed mice infected with influenza virus FM1 and PR8. And to PR8, the old injection's effect is better at small dosage. Houttuynia Cordata Injection can improve the mice pneumonia caused by influenza virus H1N1 and decrease the lung index markedly. It has a remarkable preventive and therapeutic effect on H1N1 influenza virus in mice.

**Key words:** strain FM1; strain PR8; influenza virus H1N1; Houttuynia Cordata Injection

鱼腥草注射液临床主要用于呼吸道感染、支气管炎、肺炎等呼吸道疾病的治疗<sup>[1]</sup>, 具有良好的疗效。据报道鱼腥草注射液亦具有明显降低甲型流感病毒 H1N1 感染小鼠死亡率, 降低肺指数和抑制病毒肺内

增殖的作用, 可对抗病毒感染所致动物体质量降低<sup>[2]</sup>。然而, 在注射液的生产过程中, 为了提高有效成分的溶解度及其稳定性需要加入一些辅料, 而这些辅料从种类到加入量均缺乏严格的质量标准, 往往会引起药效不稳定及不良反应。本研究采用了新、老两种辅料的鱼腥草注射液, 考察并对比了两者对 H1N1 病毒的治疗及预防作用。

收稿日期: 2010-01-19.

基金项目: 科技部甲型 H1N1 流感联防联控应急科研项目.

\*通讯作者 Tel / Fax: 86-10-84015200, E-mail: cuixl2812@sina.com

## 材料与方法

**试剂及药品** 鱼腥草注射液(新、老注射液)由中国中医科学院西苑医院基础药理实验室提供。老注射液的增溶剂为 Tween-80, 生产批号为 K-080501; 新注射液的增溶剂为 0.4% HP- $\beta$ -CD, 生产批号为 K-080907。功能主治: 清热, 解毒, 利湿。用于肺脓疡, 痰热咳嗽, 白带, 尿路感染, 痢疾。规格: 10 mL/支, 2 g 生药/mL。用法用量: 20~100 mL/60 kg, 每日 1 次静脉滴注。储存条件: 常温通风干燥处。达菲(Tamiflu, 磷酸奥司他韦胶囊)为瑞士巴塞尔豪夫迈·罗氏有限公司产品, 上海罗氏制药有限公司分装, 由安徽济人药业有限公司提供(批号: B1162, 分装批号: SH0033)。适应症: 抗病毒药, 用于治疗流行性感冒。规格: 75 mg/片, 用法用量: 70 mg/60 kg, 2 次/日口服。

**剂量设计** 鱼腥草注射液: 人临床用量为 20~100 mL/60 kg, 小鼠试验中取 80 mL/60 kg 进行换算, 用量分别采用 30、15 及 7.5 mL $\cdot$ kg<sup>-1</sup> (分别相当于临床用量的 2 倍、等倍和 1/2 倍), 试验时将原药液按 0.3 mL/10 g 腹腔注射给药作为大剂量组, 中、小剂量组为对倍稀释后按“等容不等浓”给药, 1 次/日。达菲: 动物试验中换算成小鼠等效剂量为 27.5 mg $\cdot$ kg<sup>-1</sup>, 配制成 0.92 mg $\cdot$ mL<sup>-1</sup> 药液, 按 0.3 mL/10 g 灌胃给药。

**实验动物和病毒株** ICR 小鼠 (SPF/VAF 级), 体重 (13 $\pm$ 1) g, 雌雄不限, 购于北京维通利华试验动物技术有限公司, 许可证编号: SCXK(京)2006-0009。甲型 H1N1 流感病毒鼠肺适应株 (FM1 株和 PR8 株), 购自中国疾病预防控制中心病毒病预防控制研究所, 由本所 ABSL-2 生物安全实验室传代, -80 °C 保存备用。

**实验仪器与实验场所** 倒置相差显微镜: 日本 Olympus 产品; CO<sub>2</sub> 培养箱: 日本 Sanyo 公司产品; IVC 小鼠饲养笼: 苏州教学笼具厂产品。实验场所为中国中医科学院中药研究所 ABSL-2 生物安全实验室。

**治疗给药对流感病毒感染正常小鼠肺炎模型的作用** 取小鼠按体重等级随机分为 9 组, 分别为正常对照组、模型对照组、达菲对照组、鱼腥草注射液新大、中、小 3 个剂量组、鱼腥草注射液老大、中、小 3 个剂量组, 每组 10 只。除正常对照组外, 将小鼠用乙醚轻度麻醉, 以 15 LD<sub>50</sub> 流感病毒液 (FM1 和 PR8 株) 滴鼻感染 (35  $\mu$ L/只)。感染当天开始给药, 每次按 0.3 mL/10 g 腹腔注射; 达菲对照组灌胃给药, 每天 1 次, 连续 4 天, 正常对照组和模型对照组在同等条件下生理盐水腹腔注射。第 5 天称重后解剖, 称肺重并计算肺指数及肺指数抑制率。

**预防给药对流感病毒感染免疫低下小鼠肺炎模型的作用** 取小鼠按体重等级随机分为 10 组。分别为正常对照组、模型对照组、环磷酰胺对照组、达菲对照组、鱼腥草注射液新大、中、小 3 个剂量组、鱼腥草注射液老大、中、小 3 个剂量组, 每组 10 只或 11 只 (注: 由于按照试验设计有一些组备用小鼠充足, 分到 11 只)。各给药组动物按 0.3 mL/10 g 腹腔注射给药; 达菲对照组灌胃给药, 每天 1 次, 连续 5 天; 正常对照组和模型对照组在同等条件下生理盐水腹腔注射。除正常对照组外, 前 2 天给药同时各组动物皮下注射环磷酰胺 100 mg $\cdot$ kg<sup>-1</sup>, 造成免疫低下模型。第 5 天给药 1 h 后除正常对照组外, 将小鼠用乙醚轻度麻醉, 以 15 LD<sub>50</sub> 流感病毒液 (FM1 和 PR8 株) 滴鼻感染 (35  $\mu$ L/只)。感染后第 5 天称重后解剖, 称肺重并计算肺指数及肺指数抑制率。

**统计学处理** 结果以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用组间比较  $t$  检验进行统计学分析。肺指数 = 肺湿重 (g)/体重 (g); 肺指数抑制率 (%) = (模型对照组肺重 - 实验组肺重)/(模型对照组肺重 - 正常对照组肺重)  $\times$  100%。

## 结果

### 1 鱼腥草注射液治疗给药对流感病毒感染正常小鼠肺炎模型的作用

表 1 结果显示: 采用甲型 H1N1 流感病毒 FM1 株病毒感染正常小鼠后, 肺指数明显增高, 与正常对照组比较具有显著性差异 ( $P < 0.01$ ); 感染当天开始给予鱼腥草注射液治疗 4 天后, 新制剂 3 个剂量组和老制剂大、中剂量组的肺指数均不同程度地降低, 其中新制剂小剂量组和老制剂大、中剂量组与模型对照组比较具有显著性差异 ( $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ ); 且同剂量新、老制剂相比较, 新制剂的小剂量组明显优于老制剂的小剂量组 ( $P < 0.05$ ), 大、中剂量组相比无统计学差异。

表 2 结果显示: 采用甲型 H1N1 流感病毒 PR8 株病毒感染正常小鼠后, 肺指数明显增高, 与正常对照组比较具有显著性差异 ( $P < 0.01$ ); 感染当天开始给予鱼腥草注射液治疗 4 天后, 新制剂和老制剂 3 个剂量组的肺指数均不同程度地降低, 其中新制剂的中、小剂量组和老制剂的大、中剂量组与模型对照组比较具有显著性差异 ( $P < 0.05$ ); 且同剂量新、老制剂相比无统计学差异。

### 2 鱼腥草注射液预防给药对流感病毒感染免疫低下小鼠肺炎模型的作用

表 3 和表 4 的结果显示: 采用甲型 H1N1 流感病

毒 FM1 和 PR8 两株病毒感染免疫低下小鼠后肺指数明显增高, 与正常对照组比较具有显著性差异 ( $P < 0.01$ ); 感染前预防性给予鱼腥草注射液新、老制剂连续 5 天, 两种制剂的 3 个剂量组均可显著降低肺指数,

**Table 1** Therapeutic effect of Houttuynia Cordata Injections (SHI) on normal mouse model with influenza virus FM1

| Group           | Dosage/mL·kg <sup>-1</sup> | Lung index                | Inhibition ratio/% |
|-----------------|----------------------------|---------------------------|--------------------|
| Normal control  | —                          | 0.67 ± 0.06               | —                  |
| Model control   | —                          | 1.18 ± 0.19 <sup>##</sup> | —                  |
| Tamiflu control | 27.5 mg·kg <sup>-1</sup>   | 0.86 ± 0.12 <sup>*</sup>  | 62.66              |
| SHI (new)       | 30                         | 1.06 ± 0.12               | 23.95              |
|                 | 15                         | 1.04 ± 0.12               | 27.63              |
|                 | 7.5                        | 1.00 ± 0.15 <sup>▲</sup>  | 35.35              |
| SHI (old)       | 30                         | 0.95 ± 0.16 <sup>**</sup> | 44.70              |
|                 | 15                         | 0.96 ± 0.08 <sup>**</sup> | 41.94              |
|                 | 7.5                        | 1.18 ± 0.18               | -1.24              |

$n = 10$ ,  $\bar{x} \pm s$ . <sup>##</sup> $P < 0.01$  vs normal control group; <sup>\*</sup> $P < 0.05$ , <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$  vs model control group; <sup>▲</sup> $P < 0.05$  vs old preparation at the same dosage

**Table 2** Therapeutic effect of Houttuynia Cordata Injections (SHI) on normal mouse model with influenza virus PR8

| Group           | Dosage/mL·kg <sup>-1</sup> | Lung index                | Inhibition ratio/% |
|-----------------|----------------------------|---------------------------|--------------------|
| Normal control  | —                          | 0.67 ± 0.06               | —                  |
| Model control   | —                          | 1.14 ± 0.20 <sup>##</sup> | —                  |
| Tamiflu control | 27.5 mg·kg <sup>-1</sup>   | 0.85 ± 0.11 <sup>**</sup> | 62.19              |
| SHI (new)       | 30                         | 0.98 ± 0.16               | 34.32              |
|                 | 15                         | 0.97 ± 0.10 <sup>*</sup>  | 36.42              |
|                 | 7.5                        | 0.95 ± 0.14 <sup>*</sup>  | 40.14              |
| SHI (old)       | 30                         | 0.94 ± 0.12 <sup>*</sup>  | 43.14              |
|                 | 15                         | 0.93 ± 0.19 <sup>*</sup>  | 44.16              |
|                 | 7.5                        | 0.98 ± 0.15               | 33.99              |

$n = 10$ ,  $\bar{x} \pm s$ . <sup>##</sup> $P < 0.01$  vs normal control group; <sup>\*</sup> $P < 0.05$ , <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$  vs model control group

**Table 3** Prophylactic effect of Houttuynia Cordata Injections (SHI) on immunocompromised mouse model with influenza virus FM1

| Group            | Dosage/mL·kg <sup>-1</sup> | $n$ | Lung index                | Inhibition ratio/% |
|------------------|----------------------------|-----|---------------------------|--------------------|
| Normal control   | —                          | 10  | 0.62 ± 0.06               | —                  |
| Cyclophosphamide | —                          | 11  | 0.71 ± 0.07               | —                  |
| Model control    | —                          | 11  | 1.56 ± 0.50 <sup>##</sup> | —                  |
| Tamiflu control  | 27.5 mg·kg <sup>-1</sup>   | 11  | 1.10 ± 0.18 <sup>**</sup> | 54.13              |
| SHI (new)        | 30                         | 10  | 0.82 ± 0.16 <sup>**</sup> | 86.29              |
|                  | 15                         | 10  | 0.86 ± 0.12 <sup>**</sup> | 81.93              |
|                  | 7.5                        | 11  | 0.90 ± 0.14 <sup>**</sup> | 77.63              |
| SHI (old)        | 30                         | 11  | 0.93 ± 0.12 <sup>**</sup> | 74.13              |
|                  | 15                         | 11  | 0.82 ± 0.13 <sup>**</sup> | 87.04              |
|                  | 7.5                        | 11  | 0.83 ± 0.08 <sup>**</sup> | 85.13              |

$\bar{x} \pm s$ . <sup>##</sup> $P < 0.01$  vs normal control group; <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$  vs model control group

与模型对照组比较具有显著性差异 ( $P < 0.01$ 、 $P < 0.05$ ); 且同剂量新、老制剂相比较, 老制剂小剂量组作用优于新制剂小剂量组 ( $P < 0.05$ ).

**Table 4** Prophylactic effect of Houttuynia Cordata Injections (SHI) on immunocompromised mouse model with influenza virus PR8

| Group            | Dosage/mL·kg <sup>-1</sup> | $n$ | Lung index                 | Inhibition ratio/% |
|------------------|----------------------------|-----|----------------------------|--------------------|
| Normal control   | —                          | 10  | 0.62 ± 0.06                | —                  |
| Cyclophosphamide | —                          | 11  | 0.71 ± 0.07                | —                  |
| Model control    | —                          | 11  | 1.39 ± 0.31 <sup>##</sup>  | —                  |
| Tamiflu control  | 27.5 mg·kg <sup>-1</sup>   | 11  | 1.01 ± 0.17 <sup>**</sup>  | 55.46              |
| SHI (new)        | 30                         | 11  | 1.07 ± 0.20 <sup>**</sup>  | 46.83              |
|                  | 15                         | 11  | 1.10 ± 0.24 <sup>*</sup>   | 43.12              |
|                  | 7.5                        | 11  | 1.06 ± 0.17 <sup>**</sup>  | 48.07              |
| SHI (old)        | 30                         | 11  | 1.04 ± 0.15 <sup>**</sup>  | 50.67              |
|                  | 15                         | 11  | 1.01 ± 0.13 <sup>**</sup>  | 56.23              |
|                  | 7.5                        | 11  | 0.89 ± 0.15 <sup>**▲</sup> | 73.65              |

$\bar{x} \pm s$ . <sup>##</sup> $P < 0.01$  vs normal control group; <sup>\*</sup> $P < 0.05$ , <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$  vs model control group; <sup>▲</sup> $P < 0.05$  vs new preparation at the same dosage

## 讨论

采用甲型 H1N1 流感病毒 FM1 株和 PR8 株病毒感染正常小鼠造成小鼠肺炎模型, 感染当天采用鱼腥草注射液新、老两种制剂进行治疗性给药, 连续 4 天后均可明显降低小鼠肺指数, 说明鱼腥草注射液对流感病毒感染引起的肺部炎症有明显治疗作用; 且小剂量时新制剂对 FM1 株的作用优于老制剂。预防性给予鱼腥草注射液新、老两种制剂连续 5 天后, 采用甲型 H1N1 流感病毒 FM1 株和 PR8 株病毒感染免疫低下小鼠造成肺炎模型, 鱼腥草注射液两种制剂均可明显降低小鼠肺指数, 说明鱼腥草注射液对流感病毒感染引起的肺部炎症有明显预防作用; 且小剂量时老制剂对 PR8 株的作用优于新制剂。

近年来随着中药现代化和新制剂的不断研发, 中药各种剂型在临床上的应用逐年递增。特别是中药注射剂, 是中药科技发展的一个重要成果, 其剂型的改革促进了中医药的发展, 提高了药物的疗效<sup>[3]</sup>, 弥补了中药传统制剂在治疗危重疾病方面的不足, 在临床上发挥了不可替代的作用。但不容忽视的是, 其不良反应的发生率及严重程度往往高于传统剂型。中药注射剂不良反应主要与中药的本身成分、中药注射剂的生产工艺、中药辅料、添加剂等及临床用药有关<sup>[4]</sup>。

鱼腥草注射液是鱼腥草以水蒸气蒸馏法制备的中药注射剂, 成分较多, 生物活性高, 疗效确切, 在

临床应用广泛,但亦具有严重不良反应。鱼腥草注射液不良反应的临床表现包括呼吸困难、过敏性休克、心率加快、皮肤症状、水肿以及胃肠道反应。不良反应原因为一是药品本身因素:① 鱼腥草素是主要有效成分,能促使白细胞释放致敏性物质,引起过敏反应;② 绿原酸是半抗原物质,与血浆蛋白结合后具致敏性<sup>[5]</sup>;二是生产过程出现的问题:① 原料药材不同;② 提取过程中异性蛋白沉淀不完全、杂质没有除尽,成为致敏原;③ 生产厂家加入一些辅料,从种类到加入量均缺乏严格的质量标准<sup>[6]</sup>;三是临床用药中出现的问题:① 联合用药问题。与其他药物配伍产生化学成分变化,导致不良反应;② 给药速度问题<sup>[7,8]</sup>。滴速过快<sup>[9]</sup>诱发不良反应;③ 患者个体差异<sup>[10]</sup>和机体免疫问题。针对上述鱼腥草注射液不良反应产生的原因,采取相应应对措施:加强实验研究,努力得到纯化度高、杂质含量低、有效成分稳定的制剂;对生产者严格规范,增强质量标准方面的研究,使注射液质量统一、可控;改善临床给药。

本研究采用甲型 H1N1 流感病毒感染小鼠肺炎模型,评价并比较了新、老两种不同辅料的鱼腥草注射液制剂的药效作用。新注射剂的增溶剂为 0.4% HP- $\beta$ -CD, HP- $\beta$ -CD 是当前最好的药物载体,与老制剂辅料 Tween-80 相比有明显优势:在常温下,水溶性很高,可增加难溶性药物的水溶性,增加药物稳定性;在生物体内可以促使被包络物质迅速释放,提高生物利用度;在人体内基本上不被分解代谢,也不累积,非肠道给药,基本上全部随尿液排出体外;并可降低药物毒副作用,增加药物安全性。结果显示:新、老鱼腥草注射液对流感病毒感染引起的肺部炎症均有明显治疗作用和预防作用,两种制剂的疗效比较无差异,即改变辅料后的新制剂基本保持了老制剂的原有疗效,新制剂完全可取代老制剂。

## References

- [1] Wang QL, Jiang H. Analysis on pharmacological actions and clinical medication of Houltuynia Cordata Injection [J]. Lishizhen Med Mater Med Res (时珍国医国药), 2001, 12: 491.
- [2] Hao L, Yang K. The experimental study on the antiviral effect of Houltuynia Cordata Injection on influenza virus in mice [J]. J Emerg Syndromes Tradit Chin Med (中国中医急救), 2007, 16: 7132-7141.
- [3] Ba TE, Liu J. Development of the research on Chinese medicine injection [J]. Xinjiang J Tradit Chin Med Pharm (新疆中医药), 2002, 20: 70.
- [4] Huang FH. Analyse some problems in the development of Chinese materia medica preparation through adverse reaction [J]. Technol-Mod Tradit Chin Med (科学技术-中医药现代化), 2004, (3): 104-105.
- [5] Liang JQ, Zou KP, Deng XC. Investigation and analysis of the previous literature on Chinese medicine injection's adverse drug reactions [J]. Chin J Hosp Pharm (中国医院药学杂志), 2003, 23: 4872-4881.
- [6] Lei L, Pu XF, Yang K, et al. The study on adverse effect caused by intravenous administration Houltuynia Cordata Injection [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med (中药药理与临床), 2007, 23: 1312-1331.
- [7] Li ZM, Li SH, Huang L. Analysis on 96 cases of adverse effect caused by Houltuynia Cordata Injection [J]. Lishizhen Med Mater Med Res (时珍国医国药), 2006, 17: 4091.
- [8] Wang Y, Tang ZQ. Analysis on adverse effect caused by Houltuynia Cordata Injection [J]. Chin New Drugs J (中国新药杂志), 2006, 15: 739-741.
- [9] Wang XX. Report on 20 cases of adverse effect caused by Houltuynia Cordata Injection [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2002, 27: 3122-3131.
- [10] Liu G, Zeng QY. Review of the previous literature on adverse effect by Houltuynia Cordata Injection [J]. Chin J Pharmacolepidemiol (药物流行病学杂志), 2007, 16: 2522-2561.