

suppress β -catenin signaling in colon cancer cells [J]. *Oncogene*, 2017, 36(50): 6906-6918.

[13] Zhao M M, Lu J, Li S, *et al.* Berberine is an insulin secretagogue targeting the KCNH6 potassium channel[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 5616-5629.

[14] 庄泽锴, 陈宋璋. 黄连素治疗慢性心力衰竭及其临床疗效评估[J]. 数理医药学杂志, 2021, 34(7): 1025-1027.

[15] Pierpaoli E, Cirioni O, Simonetti O, *et al.* Potential application of berberine in the treatment of *Escherichia coli* sepsis[J]. *Nat Prod Res*, 2021, 35(22): 4779-4784.

[16] Clinical and Laboratory Standard Institute. CLSI Publishes M100—Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 33rd Edition[M]. Wayne PA: CLSI, 2023.

[17] Kumarihamy M, Tripathi S, Balachandran P, *et al.* Synthesis and inhibitory activity of machaeridiol-based novel anti-MRSA and anti-VRE compounds and their profiling for cancer-related signaling pathways[J]. *Molecules*, 2022, 27(19): 6604.

[18] Mataracı-Kara E, Bayrak N, Yıldız M, *et al.* Active quinolinequinones against methicillin-resistant *Staphylococcus spp* [J]. *Chem Biodivers*, 2022, 19(1): e202100616.

[19] Li X, Wang P, Hu X, *et al.* The combined antibacterial effects of sodium new houttuynfonate and berberine chloride against growing and persistent methicillin-resistant and vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* [J]. *BMC Microbiol*, 2020, 20(1): 317-328.

[20] Nguyen H T, Pham T N, Le L T, *et al.* Complexes of Ag and ZnO nanoparticles with BBR for enhancement of gastrointestinal antibacterial activity through the impacts of size and composition [J]. *RSC Adv*, 2023, 13(9): 6027-6037.

[21] Nguyen H T, Pham T N, Le A T, *et al.* Antibacterial activity of a berberine nanoformulation[J]. *Beilstein J Nanotechnol*, 2022, 13: 641-652.

寒喘祖帕颗粒对甲型流感病毒 H1N1/PR8 株感染致小鼠肺炎的作用

张明惠¹, 米尔扎提·麦麦提¹, 郝 梦¹, 赵 璐¹, 季志红², 周利润³, 傅紫盈³, 马 璇^{1,2*}

[1. 新疆奇沐医药研究院 (有限公司), 新疆 乌鲁木齐 830011; 2. 新疆中药 (民族药) 制药共性关键技术研究重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830011; 3. 北京协和建昊医药技术开发有限责任公司, 北京 100079]

摘要: **目的** 探讨寒喘祖帕颗粒对甲型流感病毒 H1N1/PR8 株感染小鼠肺炎的影响。**方法** 小鼠随机分为正常组、模型组、达菲组 (27.5 mg/kg)、连花清瘟颗粒组 (3.3 g/kg) 和寒喘祖帕低、中、高剂量组 (0.38、0.76、1.52 g/kg)。除正常组外, 其余组小鼠均采用甲型流感病毒 H1N1/PR8 株病毒液经滴鼻感染建立肺炎模型。各组连续给予相应药物 4 d, 取样。测定小鼠体质量、肺指数及抑制率、流感病毒载量、14 d 内小鼠死亡率、生存时间; ELISA 法检测肺组织中 IL-6、IL-10、IFN- γ 、TNF- α 水平, HE 染色观察肺组织病理改变并评分。**结果** 寒喘祖帕颗粒中、高剂量组可降低感染后小鼠肺指数, 其肺指数抑制率分别为 24.01%、32.63%; 可降低死亡率, 其死亡保护率分别为 44.44%、50%。寒喘祖帕低、中、高剂量组均可降低小鼠肺组织中 IL-6、IL-10、TNF- α 、IFN- γ 水平, 改善小鼠肺部病变, 延长平均存活天数, 生命延长率分别为 17.84%、24.32%、19.46%。**结论** 寒喘祖帕颗粒可改善流感病毒 H1N1/PR8 株感染致小鼠肺炎症状, 可降低死亡率、延长平均存活天数。

关键词: 寒喘祖帕颗粒; 甲型流感病毒 H1N1/PR8 株; 肺炎

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2024)09-3154-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.09.052

甲型流感病毒 (influenza A virus, IAV) 表面的抗原极易发生变异, 从而产生人类难以预防的新亚型, 引起流感类疾病的大爆发^[1-2]。病毒感染后主要表现为高热、咳嗽、肌肉酸痛等症状, 大多伴有严重的肺炎及多种器官衰竭, 病死率较高^[3-4]。预防此类疾病最有效的方法是接种疫苗, 但其作用会随着病毒的变异而失效^[5]。目前常用磷酸奥司他韦等神经氨酸酶抑制剂^[6]、金刚烷胺等离子通道蛋白 M2 抑制剂^[7]等药物对其进行治疗, 这些药物虽能抑制病毒的复制, 但对病毒宿主后引起的机体过激炎症反应等无明显效果。中医将流感归于“疫病”范畴, 认为风热毒邪是其主要病因。临床多以疏风清热、清肺化痰、益气养阴为治疗原则, 疗效显著^[8-9]。寒喘祖帕颗粒来源于维吾尔族著名

收稿日期: 2023-05-29
基金项目: 新疆地产已上市抗感染药品综合评价二次开发与产业化示范项目 (2021A03002-2)
作者简介: 张明惠 (1992—), 女, 硕士, 工程师, 从事药物分析研究。E-mail: 1519642383@qq.com
* 通信作者: 马 璇 (1986—) 女, 博士, 高级工程师, 硕士生导师, 从事新药开发研究。E-mail: mx646@163.com

古籍药典《卡日巴丁卡德尔》，至今已有超过 1 500 年的历史，其被开发为颗粒剂，并收录于《卫生部药品标准（维吾尔药分册）》。寒喘祖帕颗粒具有清热化痰、温肺止咳的作用，临床上广泛用于哮喘、肺炎等呼吸系统疾病的治疗^[10-13]。本研究通过观察寒喘祖帕颗粒对甲型流感病毒 H1N1/PR8 株感染所致小鼠肺炎的药效作用，以期为其临床应用提供参考。

1 材料

1.1 药物 寒喘祖帕颗粒（浸膏粉，1 g 浸膏粉含 4.44 g 生药，新奇康药业股份有限公司，批号 201225），按照处方，除甘草浸膏粉外，其余小茴香等 8 味药材，加水煎煮 3 次，每次 1.5 h，合并煎煮液，过滤，滤液浓缩至相对密度为 1.12~1.15（60℃）清膏，干燥粉碎，与甘草浸膏细粉混匀，过筛即得，按照成品标准对其进行水分、甘草酸单铵盐、微生物限度进行检验，检测结果均符合要求。达菲（规格 75 mg/粒，瑞士罗氏公司，批号 M1075）；连花清瘟颗粒（规格每袋 6 g，北京以岭药业有限公司，批号 B2006019）。

1.2 动物 ICR 小鼠，SPF 级，190 只，雌雄各半，体质量 13~15 g，购自北京维通利华实验动物技术有限公司[实验动物生产许可证号 SCXK（京）2016-0006，雄性小鼠合格证编号 110011210105163186，雌性小鼠 110011210105163281]。本实验经动物伦理委员会批准（伦理批号 IACUC-YKRSW-2021-006、IACUC-YKRSW-2021-007）。

1.3 病毒株 甲型流感病毒 H1N1/PR8 株（美国 ATCC 菌毒株保藏中心），LD₅₀为 1.5×10⁻⁴，本实验室传代，-80℃冰箱保存备用。

1.4 试剂 异氟烷（上海玉研科学仪器有限公司，批号 S200106）；小鼠 IL-6、IFN-γ、IL-10、TNF-α ELISA 试剂盒（美国 NOVUS，批号 600104、261723、600105、600109）；甲型流感病毒 Real Time RT-PCR 试剂盒（上海之江生物科技股份有限公司，批号 P20210202）；TRIzol 试剂（美国 Thermo Fisher 公司，批号 284910）；三氯甲烷（太仓沪试试剂有限公司，批号 20200420）。

1.5 试剂 11229BBC86 型 A2 生物安全柜（山东博科生物产业有限公司）；1379 型 A2 生物安全柜（美国 Thermo Fisher 公司）；EMBOXUNSFNZ 型 IVC 鼠笼（意大利泰尼百斯公司）；Synergy H1 型多功能酶标仪（美国 BioTek 公司）；QuantStudio5 型 Real-Time PCR 仪器（美国应用生物系统公司）；LX-300 型八连排管迷你离心机、OL-901 型迷你涡旋振荡器（海门市其林贝尔仪器制造有限公司）；BSA3202S-CW 型电子天平、BSA323S-CW 型电子天平（德国 Sartorius 公司）；Scientz-48L 型高通量组织研磨器（宁波新芝生物科技股份有限公司）。

2 方法

2.1 寒喘祖帕颗粒对甲型流感病毒 H1N1/PR8 株感染致肺炎模型的影响

2.1.1 造模、分组及给药 ICR 小鼠按体质量随机分为正常组、模型组、达菲组、连花清瘟组和寒喘祖帕低、中、高剂量组，每组 10 只。除正常组外，其余各组小鼠以异氟烷轻度麻醉，用生理盐水稀释成 15 倍 LD₅₀ 甲型流感病毒 PR8 株病毒液滴鼻感染，每只 35 μL。寒喘祖帕颗粒人（60 kg 体质量）临床用量为每天 0.306 g/kg，换算成小鼠剂量为 3.37 g/kg，寒喘祖帕低、中、高剂量组给药生药量分别为 1.69、3.37、6.74 g/kg，转换为浸膏粉量分别为 0.38、0.76、1.52 g/kg；达菲组给予 27.5 mg/kg 达菲；连花清瘟组给予 3.3 g/kg 连花清瘟颗粒；正常组和模型组给予蒸馏水，感染 1 h 后给药，各组灌胃量均为 0.2 mL/10 g，每天 1 次，连续 4 d。

2.1.2 样本采集 给药后第 5 天，各组小鼠称定体质量后解剖，取左肺置于 4% 多聚甲醛溶液中，过夜固定，备用。取右肺置于 -80℃ 冰箱中保存，备用。

2.1.3 检测指标

2.1.3.1 ELISA 法检测炎症相关因子水平 称取肺组织 100 mg 加入生理盐水 1 mL，用高通量组织研磨器进行匀浆，使用低温高速离心机于 4℃、3 000 r/min 离心 10 min，分离上清液，于 -80℃ 冰箱冷冻保存，备用。严格按照试剂盒说明书检测 IL-6、IL-10、TNF-α、IFN-γ 水平。

2.1.3.2 肺指数测定 称定各组小鼠全肺质量，计算肺指数及抑制率，公式为肺指数 =（肺湿重/体质量）×100%；肺指数抑制率 = [（模型组肺湿重 - 给药组肺湿重）/（模型组肺湿重 - 正常组肺湿重）] ×100%

2.1.3.3 RT-qPCR 法检测肺组织内相对病毒载量 取于 -80℃ 低温冰箱保存的肺组织，加少量液氮研磨成粉末，TRIzol 法提取 RNA，于 -80℃ 低温冰箱保存。DEPC-H₂O 作为阴性对照，阳性对照品取 1×10⁷、1×10⁶、1×10⁵、1×10⁴、1×10³ 拷贝数/mL 梯度稀释共 5 个浓度。每管取 18 μL IFVA 核酸荧光 PCR 检测混合液、1 μL 内部对照品、1 μL RT-PCR 酶混合，振荡混匀，3 000 r/min 离心，取上述混合液 20 μL 置于 PCR 管中，分别加入样品核酸提取液、DEPC-H₂O、阳性对照品各 5 μL，离心并立即进行 PCR 扩增反应。按照样品 C_T 值计算样品病毒核酸浓度。

2.1.3.4 观察肺组织病理改变 将固定好的肺组织按常规脱水，浸蜡，包埋，切片，脱蜡至水，HE 染色法染色，封片后于光学显微镜下以 200 倍观察肺组织病变并摄片评分，“-”“+”“++”“+++”“++++”分别表示无病变、轻微、轻度、中度、重度，对应评分 0~4 分，缺失计“无”。评分标准见表 1。

2.2 寒喘祖帕颗粒对甲型流感病毒 H1N1/PR8 株感染致小鼠死亡保护的影响 小鼠按体质量随机分为模型组、达菲组、连花清瘟组和寒喘祖帕低、中、高剂量组，每组 20 只。各组小鼠用异氟烷轻度麻醉，用生理盐水稀释成 7.5 倍 LD₅₀ 流感病毒 PR8 株病毒液滴鼻感染，每只 35 μL，感染 1 h 后各给药组按照“2.1.1”项下剂量灌胃给药，每天 1 次，连续 4 d。每天记录小鼠死亡数量，连续观察 14 d，

表 1 肺脏病理学分级评分标准

分级	肺实质病变	炎症病变	支气管病变
-	肺实质结构正常	未见或偶见个别炎症细胞	支气管结构正常
+	5~25%肺泡间隔增厚	肺间质或支气管周围见少量炎症细胞浸润	支气管上皮细胞纤毛倒伏,排列紊乱,局灶性脱落
++	25~50%肺泡间隔增厚	肺间质或支气管周围见轻度炎症细胞浸润	部分支气管上皮细胞坏死脱落
+++	50~75%肺泡间隔增厚	肺间质或支气管周围见中度炎症细胞浸润	大片支气管上皮细胞坏死脱落
++++	75~100%肺泡间隔增厚	肺间质或支气管周围见大量炎症细胞浸润	支气管上皮几乎全部坏死脱落

并计算死亡率、死亡保护率、平均存活天数、生命延长率，公式为死亡率=（死亡数/动物总数）×100%；死亡保护率=〔（模型组死亡率-给药组死亡率）/模型组死亡率〕×100%；生命延长率=〔（给药组存活天数-模型组存活天数）/模型组存活天数〕×100%

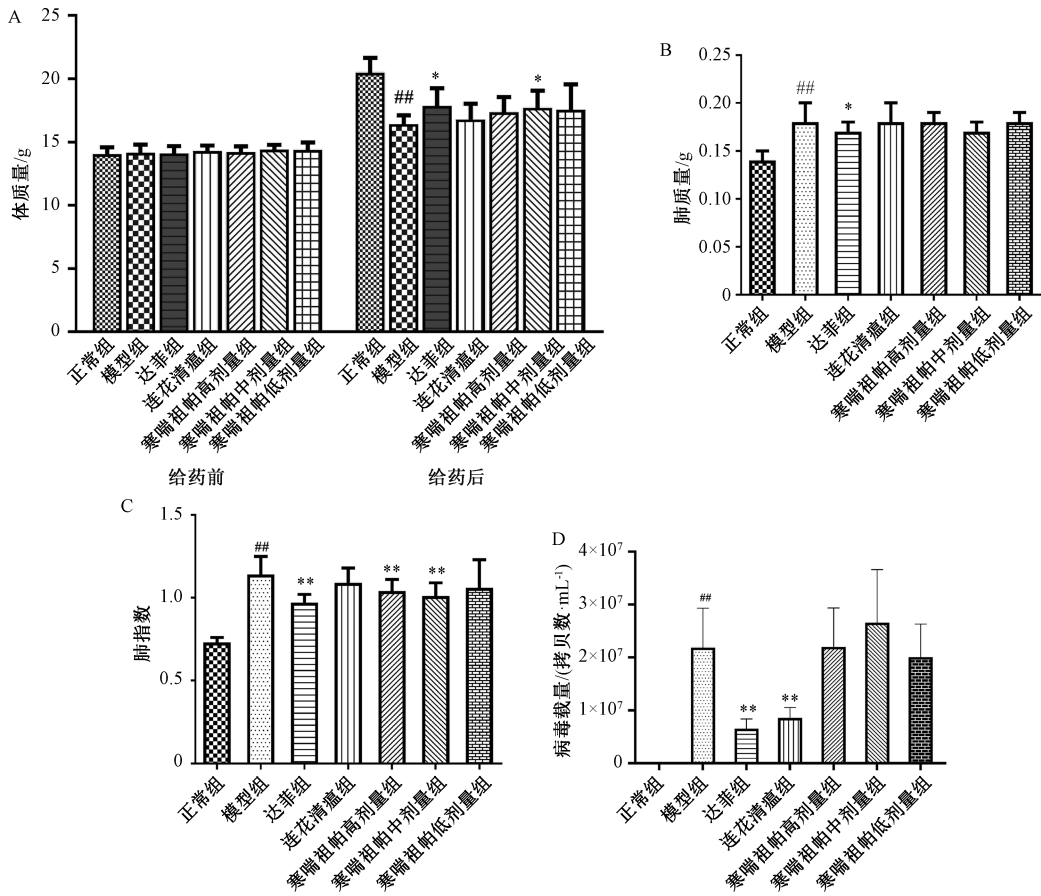
2.3 统计学分析 通过 SPSS 26.0 和 Graphpad Prism 软件进行处理，计量资料以（ $\bar{x}\pm s$ ）表示，组间比较采用方差分析和 *t* 检验；计数资料以率或构成比表示，采用卡方检验；有序多分类数据采用秩和检验。*P*<0.05 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 寒喘祖帕颗粒对甲型流感病毒 H1N1/PR8 株感染致肺炎模型的影响

3.1.1 寒喘祖帕颗粒对流感病毒 H1N1/PR8 株感染致肺炎

小鼠体质量、肺指数及病毒载量的影响 给药前各组小鼠体质量之间无明显差异（*P*>0.05）；给药前后，与正常组比较，模型组小鼠体质量降低（*P*<0.01）；与模型组比较，达菲组和寒喘祖帕低剂量组小鼠体质量升高（*P*<0.05），见图 1A。与正常组比较，模型组小鼠肺质量和肺指数均升高（*P*<0.01）；与模型组比较，达菲组小鼠肺质量降低（*P*<0.05），达菲组和寒喘祖帕高、中剂量组小鼠肺指数降低（*P*<0.01），见图 1B~1C。寒喘祖帕高、中剂量组小鼠肺指数抑制率分别为 24.01%、32.63%。正常小鼠肺组织中无流感病毒核酸表达，与正常组比较，模型组小鼠肺组织中甲型流感病毒核酸表达增加（*P*<0.01）；与模型组比较，达菲组和连花清瘟组小鼠甲型流感病毒载量减少（*P*<0.01），而寒喘祖帕各剂量组无明显影响变化（*P*>0.05），见图 1D。

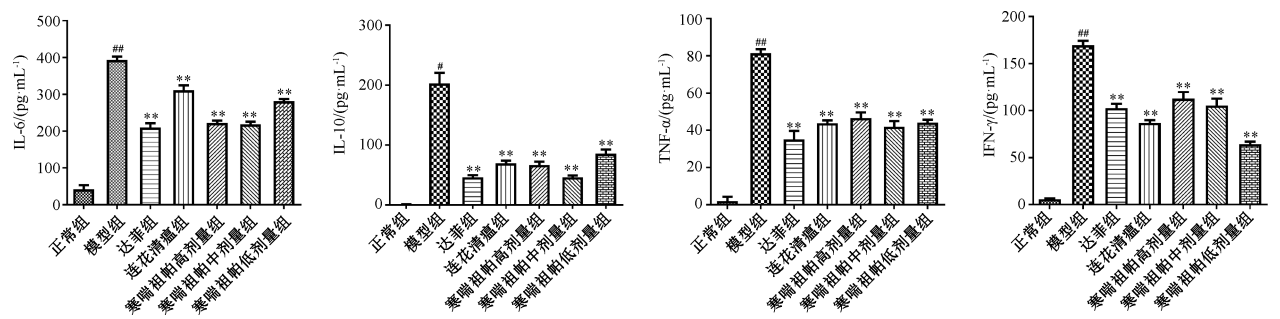


注：与正常组比较，^{##}*P*<0.01；与模型组比较，**P*<0.05，***P*<0.01。

图 1 寒喘祖帕颗粒对流感病毒 H1N1/PR8 株感染致小鼠肺炎模型肺指数的影响（ $\bar{x}\pm s$ ，*n* = 10）

3.1.2 寒喘祖帕颗粒对甲型流感病毒 H1N1/PR8 株感染致小鼠肺组织炎症因子水平的影响 与正常组比较,模型组小鼠肺组织 IL-6、IL-10、TNF-α、IFN-γ 水平均升高 ($P<$

0.05, $P<0.01$),提示模型建立成功;与模型组比较,各给药组小鼠肺组织 IL-6、IL-10、TNF-α、IFN-γ 水平均降低 ($P<0.01$),见图 2。



注:与正常组比较, # $P<0.05$, ## $P<0.01$;与模型组比较, ** $P<0.01$ 。

图 2 寒喘祖帕颗粒对甲型流感病毒 H1N1/PR8 株感染小鼠肺组织炎症因子水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

3.1.3 寒喘祖帕颗粒对病毒性肺炎小鼠肺组织病理形态学的影响 正常组小鼠肺组织结构清晰,肺泡间隔未见增厚,间质未见炎症细胞浸润,支气管组织结构未见异常改变;模型组小鼠肺泡间隔不同程度的增厚,甚至出现肺实变,实变组织周围可见部分肺泡融合、代偿性扩张,支气管上皮细胞大片状脱落,管腔内见大量坏死脱落的细胞碎片及炎症细胞聚集,支气管周围或肺间质可见不同程度的炎症细胞浸润,以淋巴细胞和单核细胞为主;寒喘祖帕高剂量组和达菲组小鼠部分肺泡间隔轻度增厚,少量支气管上皮细胞脱落,支气管周围或肺间质见轻度炎症细胞浸润,组

织学改变较模型组明显减轻;寒喘祖帕中、低剂量组和连花清瘟组小鼠肺实质、肺间质和支气管病变较模型组均有不同程度的减轻,其中,寒喘祖帕颗粒中剂量组和连花清瘟组可以看到有少量的上皮细胞脱落,较模型组有改善,见图 3。与正常组比较,模型组小鼠肺实变、炎症病变、支气管病变评分均升高 ($P<0.01$);与模型组比较,寒喘祖帕高剂量组和达菲组肺实变、炎症病变、支气管病变评分均降低 ($P<0.05$, $P<0.01$),寒喘祖帕颗粒中剂量组支气管病变评分降低 ($P<0.05$),见表 2~4。

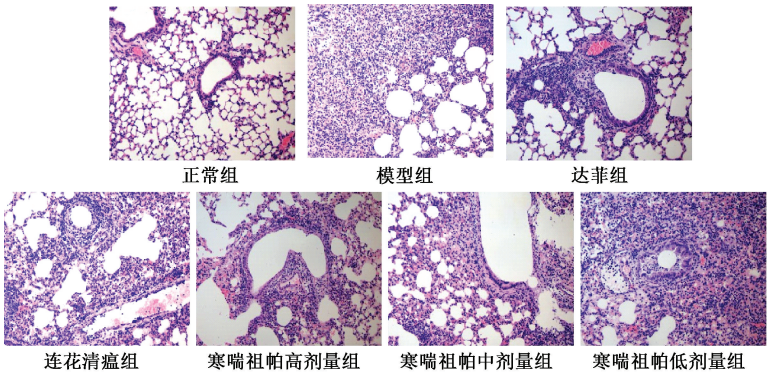


图 3 寒喘祖帕颗粒对甲型流感病毒 H1N1/PR8 株感染小鼠肺组织病理变化的影响 (HE, $\times 200$)

表 2 寒喘祖帕颗粒对甲型流感病毒 H1N1/PR8 株感染小鼠肺实变的影响 ($n=10$)

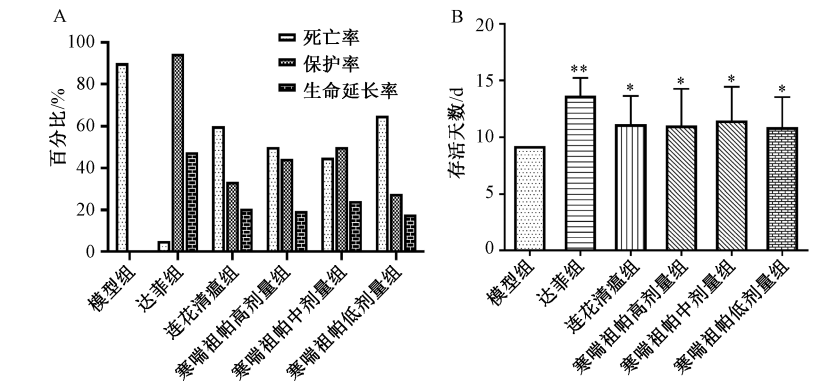
组别	病变等级(肺实变)					P 值
	-	+	++	+++	++++	
正常组	10	0	0	0	0	-
模型组	0	1	1	7	1	<0.01
达菲组	0	6	3	1	0	<0.01
连花清瘟对照组	0	0	6	4	0	>0.05
寒喘祖帕高剂量组	0	4	3	3	0	<0.05
寒喘祖帕中剂量组	0	3	2	5	0	>0.05
寒喘祖帕低剂量组	0	0	7	3	0	>0.05

表 3 寒喘祖帕颗粒对甲型流感病毒 H1N1/PR8 株感染小鼠炎症病变的影响 ($n=10$)

组别	病变等级(炎症病变)					P 值
	-	+	++	+++	++++	
正常组	10	0	0	0	0	-
模型组	0	1	2	7	0	<0.01
达菲组	0	6	3	1	0	<0.01
连花清瘟对照组	0	0	5	5	0	>0.05
寒喘祖帕高剂量组	0	3	6	1	0	<0.05
寒喘祖帕中剂量组	0	3	3	4	0	>0.05
寒喘祖帕低剂量组	0	1	5	4	0	>0.05

表 4 寒喘祖帕颗粒对甲型流感病毒 H1N1/PR8 株感染小鼠支气管病变的影响 (n=10)

组别	病变等级(支气管病变)					P 值
	-	+	++	+++	++++	
正常组	10	0	0	0	0	-
模型组	0	0	0	5	5	<0.01
达菲组	0	3	3	3	1	<0.01
连花清瘟组	0	0	4	4	2	<0.05
寒喘祖帕高剂量组	0	0	4	5	1	<0.05
寒喘祖帕中剂量组	0	0	5	3	2	<0.05
寒喘祖帕低剂量组	0	1	1	5	3	>0.05



注：与模型组比较，* P<0.05，** P<0.01。
图 4 寒喘祖帕颗粒对甲型流感病毒 H1N1/PR8 株感染致小鼠死亡的影响 (n=20)

4 讨论

流感为呼吸系统疾病，飞沫、气溶胶以及接触是其主要传播方式，可以通过呼吸道感染有效的建立流感模型。鼻滴为呼吸道感染常见的方法，它可以模拟人类飞沫感染，是一种常用、成熟且成模率高的流感动物模型的建立方法^[14-16]。流感病毒感染机体后，首先引起呼吸道感染，使其黏膜充血水肿、上皮细胞大量脱落坏死，继而肺组织出现大量炎性细胞浸润，肺泡壁充血扩张、增厚融合，以及支气管上皮细胞脱落坏死，最终导致肺组织病变^[17]。病毒感染后机体过度免疫，释放大炎症因子，聚集于肺组织，诱发流感病毒性肺炎。IL-6、IL-10、TNF-α、IFN-γ 等炎症因子的过度释放是流感病毒性肺炎病变的主要原因之一^[18-20]。流感病毒感染后，TNF-α、IFN-γ 过度产生，激活大量单核巨噬细胞，造成肺组织器官损伤。同时大量的 IFN-γ 可以促进 TNF-α、IL-6 等炎症因子产生，最终造成严重炎症损伤^[21]。IL-6 由多种免疫细胞分泌，可以被 TNF-α 诱导产生，并且在急性炎症反应中非常重要。当机体被流感病毒感染后，肺泡灌洗液以及血清中 IL-6 水平会升高且保持较长时间^[22]。IL-10 是一种与病毒性肺炎发展程度关系密切的重要指标，且对免疫应答有抑制作用，可能会抑制机体对流感病毒的清除作用^[23-24]。

本研究结果显示，与模型组比较，寒喘祖帕能延长感染甲型流感病毒 H1N1/PR8 株小鼠平均存活天数，降低死亡率，降低小鼠肺组织中 IL-6、IL-10、TNF-α、IFN-γ 水平，降低肺指数，改善肺实变、炎症病变、支气管病变。

3.2 寒喘祖帕颗粒对甲型流感病毒 H1N1/PR8 株感染致小鼠死亡的保护作用 甲型流感病毒 H1N1/PR8 株感染后，模型组小鼠死亡率为 90%；给药 4 d 后，与模型组比较，寒喘祖帕高、中剂量组均能降低死亡率，死亡保护率分别为 44.44%、50%，寒喘祖帕高、中、低剂量组生命延长率分别为 19.46%、24.32%、17.84%，见图 4A。模型组平均存活天数为 (9.25±2.31) d；与模型组比较，各给药组均能延长平均存活天数 (P<0.05)，图 4B。寒喘祖帕各剂量组观察期间死亡数均降低，其中中剂量降低幅度最大，见图 4C。

本研究结果可为寒喘祖帕颗粒在临床用药、适应症及病毒性肺炎的研究提供参考。

参考文献：

[1] 李晶晶, 刘晓东, 肖 峰, 等. 甲型流感病毒合并肺部感染与非病毒性肺部感染的表现及治疗分析[J]. 现代生物医学进展, 2019, 19(17): 3366-3369.

[2] Sempere Borau M, Stertz S. Entry of influenza A virus into host cells—Recent progress and remaining challenges[J]. *Curr Opin Virol*, 2021, 48: 23-29.

[3] Shinde V, Bridges C B, Uyeki T M, *et al.* Triple-reassortant swine influenza A (H1) in humans in the United States, 2005-2009[J]. *N Engl J Med*, 2009, 360(25): 2616-2625.

[4] 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): 90-93.

[5] Calzas C, Chevalier C. Innovative mucosal vaccine formulations against influenza A virus infections[J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 1605.

[6] 范增顺. 磷酸奥司他韦治疗甲型流感的临床价值探讨[J]. 中国处方药, 2018, 16(3): 11-12.

[7] 付 倩, 文 奇, 周银古, 等. 新余市甲型流感病毒 M 基因进化及金刚烷胺类耐药性分析[J]. 实验与检验医学, 2017, 35(6): 870-873.

[8] 张思依, 吕文亮. 中医药防治病毒性肺炎的临床研究进展[J]. 湖北中医药大学学报, 2020, 22(4): 125-129.

[9] 张雨茜. 清热解毒类代表性方剂抗流感药效作用及机制研

究[D]. 扬州: 扬州大学, 2021.

[10] 余 通, 姜大军, 尹海龙, 等. 维吾尔药寒喘祖帕颗粒研究进展及临床应用[J]. 新中医, 2019, 51(4): 42-45.

[11] 张 新, 朱金芳, 冷英莉, 等. 维药寒喘祖帕颗粒急性毒性及镇咳作用研究[J]. 新疆医科大学学报, 2010, 33(8): 867-868.

[12] 金晓红, 桂红武, 耿 伟. 寒喘祖帕颗粒的质量标准研究[J]. 中国药房, 2012, 23(15): 1405-1406.

[13] 韩 静, 贾延昆, 韩泽璐, 等. 寒喘祖帕颗粒治疗支气管哮喘疗效及安全性 meta 分析[J]. 海南医学院学报, 2022, 28(16): 1232-1241.

[14] Wu X N, Yu C H, Cai W, *et al.* Protective effect of a polyphenolic rich extract from *Magnolia officinalis* bark on influenza virus-induced pneumonia in mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 134(1): 191-194.

[15] Yin H, Fan Y, Mu D, *et al.* Transcriptomic analysis exploring the molecular mechanisms of Hanchuan Zupa Granules in alleviating asthma in rat [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 2021: 5584099.

[16] 杨玉琴, 徐春华, 周文江, 等. 两种呼吸道感染方式建立小鼠流感病毒感染模型的比较[J]. 中国实验动物学报, 2020, 28(6): 773-778.

[17] Nagai T, Shimizu Y, Shirahata T, *et al.* Oral adjuvant activity for nasal influenza vaccines caused by combination of two trihydroxy fatty acid stereoisomers from the tuber of *Pinellia ternata* [J]. *Int Immunopharmacol*, 2010, 10(6): 655-661.

[18] Dunning J, Baillie J K, Cao B, *et al.* Antiviral combinations for severe influenza [J]. *Lancet Infect Dis*, 2014, 14(12): 1259-1270.

[19] Aghaei F, Moradi M T, Karimi A. Punicalagin inhibits pro-inflammatory cytokines induced by influenza A virus [J]. *Eur J Integr Med*, 2021, 43: 101324.

[20] Hussell T, Pennycook A, Openshaw P J. Inhibition of tumor necrosis factor reduces the severity of virus-specific lung immunopathology [J]. *Eur J Immunol*, 2001, 31(9): 2566-2573.

[21] 王成祥, 高桂新, 魏守超, 等. 益气清瘟解毒合剂对流感病毒 FM₁ 感染小鼠肺中 IFN- γ , TNF- α , IL-10 及 IL-6 蛋白动态表达的影响[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(7): 541-544.

[22] 薛 燕, 许 俐, 党利亨, 等. 甲型和乙型流感病毒感染患儿淋巴细胞亚群和 IL-6 的表达[J]. 江苏医药, 2021, 47(7): 689-692.

[23] 覃 岭, 代艳超, 孙坚萍, 等. 流感患者 TNF- α 和 IL-10 水平以及与病毒载量相关性研究[J]. 传染病信息, 2019, 32(5): 415-417; 421.

[24] 刘铁钢, 于 河, 张 望, 等. 银莱汤对食积复合流感病毒感染小鼠肠黏膜 sIgA、TNF- α 、IL-10 的作用[J]. 北京中医药大学学报, 2014, 37(2): 86-89.

刺五加中代谢物质鉴定及抗 2 型糖尿病成分筛选

刘心建, 张任国, 牛 娜*, 陈立钢*
(东北林业大学化学化工与资源利用学院, 黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要: **目的** 鉴定刺五加中代谢物质, 并筛选抗 2 型糖尿病成分。**方法** UPLC-Q-TOF-MS/MS 法分析物质信息, 测定刺五加总黄酮、总酚、总糖类物质含量及对 α -淀粉酶、 α -葡萄糖苷酶的抑制作用, 偏最小二乘回归分析、灰度关联分析构建谱效关系模型, 分子对接验证结果。**结果** 共鉴定出 227 个化合物。随着溶剂极性增加, 刺五加萃取物对 α -淀粉酶、 α -葡萄糖苷酶抑制的 IC₅₀ 值逐渐降低, 总黄酮、总酚、总糖类物质含量逐渐升高, 肉豆蔻素 A2 对 α -淀粉酶、 α -葡萄糖苷酶的抑制效果最佳。**结论** 肉豆蔻素 A2 可能为刺五加抗 2 型糖尿病的潜在成分。

关键词: 刺五加; 代谢物质; 2 型糖尿病; UPLC-Q-TOF-MS/MS; 偏最小二乘回归分析; 灰度关联分析; 分子对接

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2024)09-3159-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.09.053

收稿日期: 2023-05-04

基金项目: 国家自然科学基金 (21401019); 黑龙江省自然科学基金 (LH2022B004)

作者简介: 刘心建 (1997—), 男, 硕士生, 从事中药指纹图谱、质量控制研究。E-mail: 884143071@qq.com

* **通信作者:** 牛 娜 (1987—), 女, 副教授, 硕士生导师, 从事中药质量控制研究。E-mail: niuna@nefu.edu.cn

陈立钢 (1982—), 男, 教授, 博士生导师, 从事天然产物研究。E-mail: analchem@nefu.edu.cn

网络出版日期: 2023-08-21

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20230820.1409.002.html>.