

- mTOR signaling in cancer [J]. *Front Oncol*, 2014, 4(4): 64.
- [3] HASSAN B, AKCAKANAT A, HOLDER A M, et al. Targeting the PI3-kinase/Akt/mTOR signaling pathway [J]. *Surg Oncol Clin North Am*, 2013, 22(4): 641-664.
- [4] DIENSTMANN R, RODON J, SERRA V, et al. Picking the point of inhibition: a comparative review of PI3K/AKT/mTOR pathway inhibitors [J]. *Mol Cancer Ther*, 2014, 13(5): 1021-1031
- [5] WU C J, ZHAO J L, ZHOU Z X, et al. Research progress of selective PI3K inhibitors [J]. *Cent South Pharm(中南药学)*, 2014,12(4): 305-310.
- [6] MUSI E, AMBROSINI G, DE STANCHINA E, et al. The phosphoinositide 3-kinase α selective inhibitor BYL719 enhances the effect of the protein kinase C inhibitor AEB071 in GNAQ/GNA11-mutant uveal melanoma cells [J]. *Mol Cancer Ther*, 2014, 13(5): 1044-1053.
- [7] KU B M, JHO E H, BAE Y H, et al. BYL719, a selective inhibitor of phosphoinositide 3-Kinase α , enhances the effect of selumetinib (AZD6244, ARRY-142886) in KRAS-mutant non-small cell lung cancer [J]. *Invest New Drugs*, 2015, 33(1): 12-21.
- [8] LU M, LI L S, SONG X, et al. The process of endothelial cell migration during tumor angiogenesis [J]. *Chin Sci Bull(科学通报)*, 2013, 58(33): 3381-3389.
- [9] ZHONG J J, ZHANG J Y, YUAN Z K, et al. Advance in angiogenesis inhibitors [J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学)*, 2013, 30(2): 213-218.
- [10] TOMAO F, PAPA A, ROSSI L, et al. Angiogenesis and antiangiogenic agents in cervical cancer [J]. *Onco Targets Ther*, 2014(7): 2237-2248.
- [11] ADESUNLOYE B A, KARZAI F H, DAHUT W L. Angiogenesis inhibitors in the treatment of prostate cancer [J]. *Chem Immunol Allergy*, 2014(99): 197-215.
- 收稿日期: 2015-04-08

蒲公英有机萃取物的抗甲型 H1N1 流感病毒作用

王晓丹¹, 夏晓玲², 赵玉娇¹, 王新华³, 张荣平^{2*}, 孙强明^{1*} (1.北京协和医学院/中国医学科学院医学生物学研究所、云南省重大传染病疫苗研发重点实验室, 昆明 650118; 2.昆明医科大学, 昆明 650500; 3.广州医科大学附属第一医院, 广州医科大学呼吸疾病国家重点实验室, 广州 510230)

摘要: 目的 通过检测蒲公英不同的萃取物体外抗甲型 H1N1 流感病毒作用, 探讨其在甲型 H1N1 流感治疗上的应用。方法 首先用乙醇萃取而得到蒲公英的乙醇萃取物, 然后依次采用乙酸乙酯、正丁醇、石油醚、水萃取蒲公英的乙醇萃取物, 得到不同溶剂的萃取物; 选用狗肾传代 MDCK 细胞作为病毒的宿主对病毒进行培养和扩增; 通过血凝效价和 Real time RT-PCR 实验, 间接或直接检测蒲公英不同萃取物对病毒的中和作用和增殖抑制作用。结果 4 种不同溶剂的蒲公英萃取物作用病毒后, 只有石油醚、乙酸乙酯组的血凝效价数值出现了一定程度的下降, 其中乙酸乙酯萃取物组的值下降了 2~4 倍; 而石油醚萃取物在 96 h 时, 中和实验组和增殖抑制组的血凝效价值分别下降了 256 倍和 128 倍。Real time RT-PCR 检测表明, 石油醚和乙酸乙酯萃取物明显抑制病毒的扩增量。作用 96 h 时, 无论是中和实验还是增殖抑制实验, 石油醚萃取物的作用都是最显著的, 病毒扩增率较阳性对照分别减少了 92.4%和 95.6%。结论 蒲公英乙酸乙酯萃取物和石油醚萃取物在体外有明显的抗甲型 H1N1 流感病毒的作用。

关键词: 蒲公英; 甲型流感病毒; 狗肾传代细胞; 抗病毒作用; 萃取物

中图分类号: R978.7 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2015)12-1423-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.12.003

Anti-influenza A (H1N1) Virus Effect of Organic Solvent Extracts from Taraxaci Herba

WANG Xiaodan¹, XIA Xiaoling², ZHAO Yujiao¹, WANG Xinhua³, ZHANG Rongping^{2*}, SUN Qiangming^{1*} (1.Institute of Medical Biology, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Yunnan Key Laboratory of Vaccine Research & Development on Severe Infectious Disease, Kunming 650118, China; 2.Kunming Medical University, Kunming 650500, China; 3.The First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, National Key Laboratory of Respiratory Disease, Guangzhou 510230, China)

基金项目: 国家自然科学基金(81460593, 81171946); 云南省科技计划项目(2014FA031, 2011CA016, 2012FB188); 中国医学科学院医学生物学研究所科技计划重点项目(2014IMB05ZD)

作者简介: 王晓丹, 女, 研究实习员 Tel: (0871)68335165 E-mail: xiaodanwangtj@imbcams.com.cn 共同第一作者: 夏晓玲, 女, 教授 Tel: 13908712443 E-mail: xx15256@163.com *通信作者: 张荣平, 男, 博士, 教授 Tel: (0871)68317446 E-mail: zhrpkm@163.com 孙强明, 男, 博士, 教授 Tel: (0871)68335165 E-mail: qsun@imbcams.com.cn

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the anti-influenza A (H1N1) virus effect of organic solvent extracts from Taraxaci Herba by neutralization test and proliferation inhibition test *in vitro*. **METHODS** After Taraxaci Herba was extracted by alcoholate, the alcoholate extracts of Taraxaci Herba were extracted by ethyl acetate, *n*-butyl alcohol, petroleum ether and water in turn. Cytopathogenic effect (CPE) of MDCK cell infection by influenza A (H1N1) virus was observed with the interference of Taraxaci Herba extract based on cell culture technique. The anti-influenza A (H1N1) virus effect of neutralization test and proliferation inhibition test of Taraxaci Herba extracts were observed by the hemagglutination titre test and Real time RT-PCR. **RESULTS** Anti-influenza A (H1N1) virus neutralization and proliferation inhibition effect of four Taraxaci Herba extracts were observed after 96 h of treatment. The results of neutralization test showed that hemagglutination titer of ethyl acetate extracts were 2–4 times lower than the control group. While the results of neutralization and proliferation inhibition test showed that hemagglutination titer of petroleum ether extract was 256 and 128 times lower than the control group, respectively. According to the results of Real time RT-PCR test, the inhibition ratio of ethyl acetate extract and petroleum ether extract were lower than the control group. After 96 h of treatment by petroleum ether extract, amplification inhibition rate of neutralization and proliferation inhibition test were 92.4% and 95.6% lower comparing to the control, respectively. **CONCLUSION** Ethyl acetate and petroleum ether extract of Taraxaci Herba have anti-influenza A (H1N1) virus effects *in vitro*. **KEY WORDS:** Taraxaci Herba; influenza A virus; MDCK cells; antiviral effect; extract

人类历史上曾于 1918, 1957, 1968 及 1977 年发生过 4 次流感大流行, 造成了极为严重的损失。2009 年 3 月墨西哥爆发的猪流感, 后被确定为甲型 H1N1 流感[Influenza A (H1N1)], 简称甲流, 很快席卷全球^[1]。甲型 H1N1 流感是由新型猪源性甲型 H1N1 流感病毒引起的一种人畜共患急性呼吸道传染性疾病; 其病原是一种新的重配 H1N1 亚型病毒, 其中聚合酶 B2(polymerase B2, PB2), 聚合酶 B1(polymerase B1, PB1), 聚合酶 A(polymerase A, PA), 血凝素(hemagglutinin, HA), 核蛋白(nuclear protein, NA), 非结构蛋白(non-structural protein, NS)基因与北美三源重配的 SIV 同源, NA 和 M 基因则与欧洲类禽 H1N1 病毒同源^[2-3]。虽然甲流的爆发的时间迄今已经 5 年, 但由于病毒的流行病学特点表现为传染性强、传播速度快、传播范围广等^[4], 研究对其有效的治疗药物有重要意义。目前治疗甲流的药物主要是达菲(奥司他韦), 但由于其价格高, 在预防治疗时, 阻碍了药物大面积的推广。

蒲公英(Taraxaci Herba)为菊科(compositae)植物蒲公英(*Taraxacum mongolicum* Hand.-Mazz.)、华蒲公英(*Taraxacum sinicum* Kitag.)及同属多种植物的干燥全草, 最初记载于唐代的《新修本草》^[5]。有关蒲公英的研究较多, 但主要集中在研究其化学成分以及全草提取液的广谱抗菌作用、抗肿瘤作用、利胆保肝作用、免疫促进作用^[6]。临床上蒲公英主要用于治疗胃癌、急性乳腺炎、小便热淋、湿热黄疸、急性阑尾炎、阑尾脓肿、瘰疬痰核、咽喉肿痛、产后宫缩疼痛、流行性腮腺炎、小儿热结便秘等^[7]。研究发现, 清热解毒同抗菌、抗病毒之间有密切的关系, 很多具有清热解毒、清热

燥湿和清热泻火的药物同时也能抗病毒^[8]。孙清廉就总结得出蒲公英具有抗呼吸道、腮腺炎、疱疹病毒的作用^[9]。但在 1969 年, 锦州市结核防治院发现, 蒲公英煎剂或水提物对流感京科 68-1 株、副流感仙台株、腺病毒 3 型及鼻病毒 17 型等呼吸道病毒均无抑制作用^[10]。由于引起甲型 H1N1 流感的病原为甲型 H1N1 病毒, 为了探讨蒲公英是否具有抗该病毒的作用, 在得到蒲公英乙醇萃取物后, 再分别依次用乙酸乙酯、正丁醇、石油醚、水四种不同溶剂来萃取蒲公英从而得到不同的萃取物, 通过血凝效价和 Real time RT-PCR 方法间接或直接测定蒲公英不同萃取物对甲型 H1N1 流感病毒的体外中和作用和增殖抑制作用, 探究其在体外对甲型 H1N1 流感病毒的抵抗作用。

1 材料与方法

1.1 材料

蒲公英全株药材于 2012 年采购自云南省楚雄州元谋县; 鉴定人: 中国科学院昆明植物研究所雷立公研究员。狗肾传代细胞(MDCK)和 A 型甲型流感病毒 H1N1 由中国医学科学院医学生物学研究所分子流行病学室提供。

1.2 仪器

CO₂ 培养箱(美国 Thermo Scientific); SYNERGY-4 多功能酶标仪(美国 BioTek 公司); 实时荧光定量 RT-PCR 仪(美国的 Bio-Red 公司)。

DMEM 培养基(美国 GIBCO); BSA 牛血清白蛋白(美国 Roche); TPCK 胰酶(英国 abcam); 石油醚、乙酸乙酯、正丁醇均购自天津化学制品三厂; PBS(pH 7.2, 美国 GIBCO)、QIAamp[®] Viral RNA mini kit (批号: 52904, QIAGEN 公司); Prime Script One Step RT-PCR Kit(批号: RR055A)和 One Step

SYBR[®] PrimeScript™ RT-PCR Kit II (Perfect Real Time, 批号: RR066A)均购于日本 TAKARA。

1.3 试剂的配制

抗凝剂 1.32%的柠檬酸钠+0.48%的柠檬酸+1.47%的葡萄糖; 病毒吸附液[DMEM+TPCK 胰酶(1%)]; 细胞维持液(病毒吸附液+BSA, 再加入适当的 NaHCO₃ 调节 pH, 最终 BSA 浓度为 1%)。

1.4 药材的处理

药材处理过程见图 1。

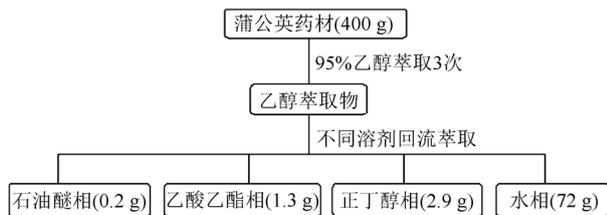


图 1 蒲公英不同的萃取物制备流程图

Fig. 1 Flow chart for the preparation of Taraxaci Herba extracts

1.5 甲型 H1N1 流感病毒的扩增和滴度的测定

1.5.1 扩增病毒 ①待 MDCK 细胞单层铺满培养瓶瓶底的 90%后弃去培养液, PBS 轻轻晃洗细胞表面后, 加入含有病毒的病毒吸附液 1 mL(10 μL 病毒储存液+990 μL 病毒吸附液), 轻轻摇晃均匀后, 置(34±1)°C 吸附 2 h 后, 补加 9 mL 维持液, (34±1)°C 培养, 直到细胞出现明显的病变。②将出现病变的细胞置于-70 °C 反复冻融 3 次后, 收取悬液于 15 mL 离心管中, 4 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 收集上清分装于 1.5 mL 离心管中, -80 °C 保存待用。

1.5.2 病毒滴度测定 将上述扩增后的病毒储存液用 DMEM 培养基进行梯度稀释至 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵, 10⁻⁶, 10⁻⁷, 10⁻⁸ 后, 分别加入到种有 MDCK 细胞的 96 孔板中(每孔 100 μL), 每个浓度设置 8 个复孔, 对照组为细胞空白对照, 72 h 后对出现病变孔数进行统计。按 Reed-Muench 公式^[4]计算病毒半数致细胞病变剂量(TCID₅₀)。

1.5.3 病毒血凝效价的测定 ①鸡血球细胞制备: 抗凝剂 20 mL+新鲜公鸡血 20 mL, 混匀后 1 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 弃上清, 加入 20 mL 生理盐水, 混匀后 1 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 弃上清, 如此洗 3 遍, 获得鸡血球细胞。鸡血按 1% 稀释, 即 1 mL 鸡血+99 mL 生理盐水, 混匀。②取 96 孔板, 每孔加入生理盐水 50 μL, 加 24 孔(其中 12 孔为阴性对照); 吸取 50 μL 的病毒样品加入第一

孔, 换新枪头吹打混匀, 取 50 μL 于下一孔, 依次对倍稀释至第 12 孔, 弃去 50 μL。③取 1% 的鸡血球细胞每孔加入 50 μL, 加到上述样品及阴性对照孔中。④置室温 45 min~1 h, 观察结果。

1.6 蒲公英初提取物对甲型流感 H1N1 病毒的中和和增殖抑制作用

将不同溶剂萃取相应萃取物分别溶于 PBS 中, 依次得到 100 μg·μL⁻¹ 的母液待用。

1.6.1 中和实验 将 MDCK 细胞种入 96 孔板(1×10⁶)中, 6 h 后吸出培养液, 每孔加入 160 μL 含有各浓度药液(5, 20, 50, 100 μg·mL⁻¹)和病毒液(10⁻²)的混合液, 以上每个药物浓度设 3 个复孔。然后再另设 3 组对照, 阳性对照(细胞+病毒)、药物对照(细胞+不同浓度的药液)和细胞空白对照。

1.6.2 增殖抑制实验 将病毒稀释到终浓度为 10⁻², 加入细胞培养孔中(每孔 100 μL)作用 24 h 后, 弃掉病毒液, 加入中药。药物终浓度为 5, 20, 50, 100 μg·mL⁻¹。

1.6.3 实验样品血凝效价测定(微量法) 样品准备: 中和实验和增殖抑制实验的具体实验过程见“1.6.1”和“1.6.2”, 在不同时间段吸取 100 μL 相应的培养上清, 收集准备血凝效价测定实验。血凝效价测定的具体步骤见前述。

1.6.4 RT-PCR 鉴定甲型 H1N1 流感病毒 RNA 用 6 孔板重复上述中和实验和抗增殖实验, 每个药物设 3 个复孔, 72 h 或 96 h 后, 收集培养液, 反复冻融后, 4 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 收集上清后, 按照 RNA 提取试剂盒所写步骤来提取总 RNA, 每孔所提取的 RNA 都分别收集到 2 个离心管中(每管各 30 μL RNA), -80 °C 保存待用。

为了鉴定实验过程中病毒是否发生变化, 通过比对 Gene bank 里多株 A 型甲流病毒株的保守序列, 以[A/Swine/Iowa/30 (H1N1)]株为准, gene bank 的登录号为: AF250364.2。通过 primer 5.0 来设计引物, 前端引物: TTCTAACCGAGGTGA AACG, 后端引物: ACAAAGCGTCTACGCTGC AG。

以提取样本的 RNA 为模板, 然后使用 Prime Script One Step RT-PCR Kit 进行 RT-PCR。RT-PCR 反应使用 25 μL 的反应体系: RNAase free water, 1.1 μL; 2×1 step Buffer, 12.5 μL; Enzyme Mix, 1.2 μL; Primer F/R, 分别 0.6 μL; 模板 RNA, 1.5 μL。反应条件: 50.0 °C, 30 min; 95.0 °C, 2 min; 39 次循环: 95.0 °C、30 s, 55.0 °C、30 s, 72.0 °C、

40 s; 72.0 °C 反应 5 min。产物经 1%琼脂糖凝胶电泳鉴定。

1.6.5 Real time RT-PCR 测定蒲公英不同溶剂萃取相对甲型 H1N1 流感病毒增殖抑制作用 以提取样本的 RNA 为模板, 然后使用 One Step SYBR[®] PrimeScript[™] RT-PCR Kit II (Perfect Real Time) 进行 Real time RT-PCR。Real time RT-PCR 反应使用 25 μL 的反应体系: RNase Free dH₂O, 6.5 μL; 2×One Step SYBR[®] Buffer, 12.5 μL; TaKaRa Ex Taq HS Mix, 1.5 μL; PrimeScript[®] PLuS RTase Mix, 0.5 μL; Primer F/R, 分别 1 μL; 模板 RNA, 2 μL。反应条件: 50.0 °C, 30 min; 95.0 °C, 2 min; 39 次循环: 95.0 °C, 30 s; 55.0 °C, 30 s; 72.0 °C, 40 s; 72.0 °C 反应 5 min。

2 结果

2.1 甲型 H1N1 流感病毒的扩增和滴度的测定

72 h 后, 发现当病毒浓度为 10⁻¹~10⁻² 时, 其中的 8 孔完全病变; 当病毒浓度下降到 10⁻³ 时, 其中 6 孔发生病变; 而当病毒浓度在 10⁻⁵ 时, 没有发生病变。提示引起细胞发生病变的病毒的稀释度为 10⁻¹~10⁻³, 所以后续实验的浓度拟定为 10⁻², 培养时间为 72 h。并根据细胞病变抑制结果, 用 Reed-Muench 公式可以计算出: 甲型流感病毒的 50%组织细胞感染量(TCID₅₀)为 10^{-4.25}·mL⁻¹。同时测出病毒的血凝效价为 1:1 028。

2.2 蒲公英乙酸乙酯和石油醚萃取物的抗病毒作用

在对照组药物作用于细胞的 96 h 中, 当浓度 ≤100 μg·mL⁻¹ 时, 蒲公英的萃取物对细胞的形态结构和生长情况没有影响, 由此可以推断出此药物浓度对细胞没有毒性。同时乙酸乙酯和石油醚萃取物对流感病毒有明显的抑制作用, 其最佳的作用浓度为 100 μg·mL⁻¹。为了进一步的研究蒲公英萃取物的抗病毒作用, 通过血凝效价的检测以及 Real time RT-PCR 分别研究了中和病毒和抑制病毒增殖的作用。

在增殖抑制实验中, 病毒阳性对照在种毒后 48 h 完全出现病变, 正丁醇、乙酸乙酯和石油醚萃取物有抑制病毒增殖作用; 72 h 后只有乙酸乙酯萃取物有抑制病毒增殖的作用, 而这种作用到 96 h 后完全消失。中和实验中, 病毒阳性对照在种毒 48 h 后, 病毒对照孔都出现轻微病变, 实验孔 4 种萃取物都有中和病毒的作用; 但在 72 h 或 96 h 就只有乙酸乙酯和石油醚萃取物有中和病毒作用。结果见图 2~3。

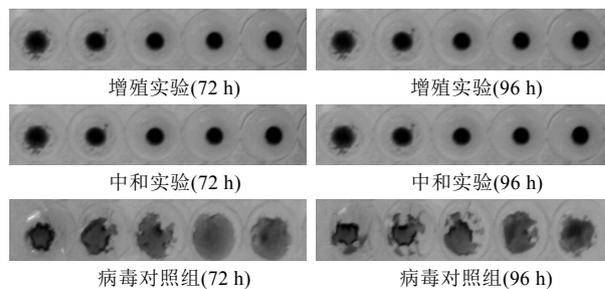


图 2 蒲公英乙酸乙酯萃取物在增殖实验和中和实验中病毒的血凝现象

Fig. 2 The hemagglutination inhibition of Taraxaci Herba ethyl acetate extract in neutralization test and proliferation inhibition test

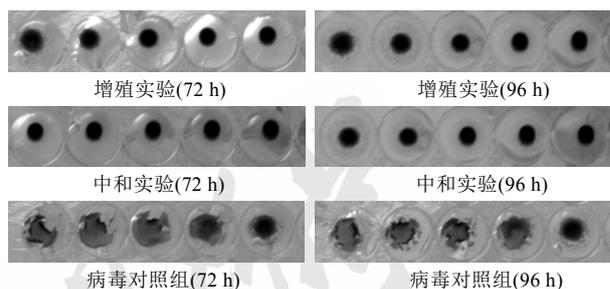


图 3 蒲公英石油醚萃取物在增殖实验和中和实验中病毒的血凝现象

Fig. 3 The hemagglutination inhibition of Taraxaci Herba petroleum ether extract in neutralization test and proliferation inhibition test

由图 2 和图 3 可以看出, 在增殖实验和中和实验中, 相比于病毒对照组的血凝抑制现象, 蒲公英乙酸乙酯萃取物和石油醚萃取物作用组都出现血凝现象, 由此说明这 2 种萃取物能抑制病毒的抗凝血效应。表 1 所示, 乙酸乙酯萃取物中和实验组 72 h 和 96 h 时, 血凝效价分别下降了 2 倍和 32 倍; 而增殖抑制组 72 h 和 96 h 时, 血凝效价都下降了 4 倍。石油醚萃取物中和实验组在 72 h 和 96 h 时, 血凝效价分别下降了 4 倍和 256 倍, 而增殖抑制组血凝效价分别下降了 4 倍和 128 倍。结果显示乙酸乙酯萃取物和石油醚萃取物都能在体外有效的抑制病毒的增长。

表 1 蒲公英乙酸乙酯和石油醚萃取物在增殖实验和中和实验中血凝效价值的变化

Tab. 1 Hemagglutination titer results treated with ethyl acetate and petroleum ether extract of Taraxaci Herba

实验组(蒲公英)	增殖实验		中和实验	
	72 h	96 h	72 h	96 h
乙酸乙酯萃取物	1:4	1:512	1:16	1:32
石油醚萃取物	1:4	1:16	1:8	1:4
病毒组对照	1:16	1:2 048	1:32	1:1 024

通过 Real time RT-PCR 对各样本的初始模板量进行比较, 当 2 种萃取物作用于细胞时, 比空白对照细胞病毒的扩增量有明显下降。96 h 后, 无论是中和实验还是增殖抑制实验, 石油醚萃取物的作用都是最显著的, 病毒扩增率较阳性对照分别减少了 92.4%和 95.6%。[药品对流感病毒扩增抑制率 $= (1-2^{-\Delta Ct}) \times 100\%$, ΔCt 值=中药处理组样品平均 Ct 值-病毒阳性对照组样品平均 Ct 值。] 结果见表 2 和表 3。

表 2 样品的平均 Ct 值

Tab. 2 The average Ct value of the sample

样品 (蒲公英萃取物)	增殖实验		中和实验	
	72 h	96 h	72 h	96 h
乙酸乙酯萃取物	22.34±0.13	14.72±0.08	20.59±0.17	20.71±0.12
石油醚萃取物	24.35±0.10	20.10±0.03	20.06±0.13	19.47±0.05
病毒组对照	21.92±0.16	14.27±0.21	18.73±0.41	17.91±0.73

表 3 乙酸乙酯和石油醚对 H1N1 病毒扩增的抑制率

Tab. 3 Ethyl acetate extract and petroleum ether extract of *Herba Taraxai* for H1N1 virus amplification inhibition rate table

样品(蒲公英萃取物)	%			
	中和实验		增殖实验	
	72 h	96 h	72 h	96 h
乙酸乙酯萃取物	79.1	19.9	56.8	62.4
石油醚萃取物	72.6	95.6	64.2	92.4

3 讨论

流感病毒表面的 HA 与病毒吸附和传入宿主细胞有关。HA 能与人或其他动物多种红细胞表面 N-乙酰神经氨酸酶受体结合引起红细胞凝集。所以可以通过检测血凝效价值的大小, 来间接的测定实验过程病毒含量的变化。而 Real time RT-PCR 则可以通过定量检测病毒遗传物质 RNA 的含量直观的测出病毒的含量, 从而直观的计算出药物的抑制率。本研究主要通过血凝效价和 Real time RT-PCR 方法对药物在体外对病毒的中和作用和增殖抑制作用做了研究。实验结果显示, 与病毒阳性对照相比, 无论是中和实验还是增殖抑制实验, 随着作用时间的延长, 蒲公英乙酸乙酯萃取物和石油醚萃取物对 H1N1 病毒血凝效价值降低的倍数都会相应的上升。根据 Real time RT-PCR 的值可以看出这 2 种萃取物在体外对 H1N1 病毒都有明显抑制作用。He 等^[11]通过沸水直接得到的蒲公英水提取物对 H1N1 病毒具有抑制作用, 而本实

验的蒲公英的水相萃取物则对 H1N1 病毒无相应的作用, 推测主要是由于所采取的提取方法不同。本实验蒲公英水萃取物是在得到蒲公英乙醇萃取物后, 再分别依次用乙酸乙酯、正丁醇、石油醚提取后, 最后才采用水来萃取, 所以其得到的水相物的组分可能会与沸水直接煮沸所得到的水溶物有所不同。此种现象也为以后研究其作用的具体组分提供了新的思路。

蒲公英品种丰富, 分布广泛, 对生长环境的温度、湿度要求不高, 不良反应小、价格低廉、易于推广和普及, 制作的工艺流程较成熟, 较其他西药有明显的医学价值和经济价值。所以如果能把蒲公英用于甲型流感 H1N1 的治疗中, 能在很大的程度上减少药物成本。为了从机制上更好地解释蒲公英抗甲型流感 H1N1 病毒作用, 也为了更好的发挥其抗病毒作用, 还需进一步找出具体的某种或某几种成分来进一步说明其抗病毒的作用机制。

REFERENCES

- [1] 凌云, 狄亚敏. 甲型 H1N1 流感的病原学及其治疗药物[J]. 解放军药学报, 2009, 25(3): 238-240.
- [2] NOVEL SWINE-ORIGIN INFLUENZA A (H1N1) VIRUS INVESTIGATION TEAM, DAWOOD F S, JAIN S, et al. Emergence of a novel swine-origin influenza A (H1N1) virus in humans [J]. N Engl J Med, 2009, 360(25): 2605-2615.
- [3] QI X, LU C P. Swine influenza virus: evolution mechanism and Epidemic characterization-A review [J]. Acta Microbiol Sin(微生物学报), 2009, 49(9): 1138-1145.
- [4] WANG Y, XU Y Y, ZHANG C F, et al. Research progress on A H1N1 influenza [J]. Med J Chin PLA(解放军医学杂志), 2009, 34(6): 651-654.
- [5] LI J H, LIU Y Q, WANG L M. Research progress on genus *Taraxacum* plants [J]. J Jilin Med Coll(吉林医药学院学报), 2011, 32(3): 160-166.
- [6] 吴艳玲, 朴惠善. 蒲公英的药理研究进展[J]. 时珍国医国药, 2004, 15(8): 519-520.
- [7] 周振. 蒲公英药理研究与临床应用[J]. 光明中医, 2009, 24(9): 1801-1802.
- [8] QU C H, XI Y, TAO L, et al. Comparative studies on antibacterial action of three preparations used for cold *in vitro* [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2005, 22(5): 420-421.
- [9] 孙清廉. 抗病毒中医方药功效卓著[J]. 开卷有益(求医问药), 1997(7): 32.
- [10] LIN Y, ZHENG J H. Research progress of a Chinese traditional drug taraxacum herb [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 1998, 15(3): 10-13.
- [11] HE W, HAN H, WANG W, et al. Anti-influenza virus effect of aqueous extracts from dandelion [J]. Virol J, 2011(8): 538. Doi: 10.1186/1743-422X-8-538.

收稿日期: 2015-05-06