

- [13] Wu J H, Guo N F, Chen X L, et al. Coexistence of micro-inflammatory and macrophage phenotype abnormalities in chronic kidney disease[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2020, 13(2): 317-323.
- [14] Zhu H K, Wang X J, Wang X X, et al. Curcumin attenuates inflammation and cell apoptosis through regulating NF- $\kappa$ B and JAK2/STAT3 signaling pathway against acute kidney injury[J]. *Cell Cycle*, 2020, 19(15): 1941-1951.
- [15] Wu S, Fang Z, Zhou S J. Saturated hydrogen alleviates CCl<sub>4</sub>-induced acute kidney injury via JAK2/STAT3/p65 signaling[J]. *J Int Med Res*, 2020, 48(1): 300060519895353.
- [16] Tan Z K, Liu Q Q, Chen H J, et al. Pectolarigenin alleviated septic acute kidney injury via inhibiting Jak2/Stat3 signaling and mitochondria dysfunction[J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 159: 114286.
- [17] Qin T Y, Wu Y, Liu T H, et al. Effect of Shengkang on renal fibrosis and activation of renal interstitial fibroblasts through the JAK2/STAT3 pathway[J]. *BMC Complement Med Ther*, 2021, 21(1): 12.
- [18] 陈旻星, 彭 斌, 冯 雪, 等. 积雪益肾排毒方加味联合非布司他治疗慢性肾脏病合并无症状高尿酸血症临床研究[J]. *中西医结合研究*, 2022, 14(3): 150-153.
- [19] 胡 溪, 高 智, 冯 立, 等. 基于“肠-肾轴”理论探究益肾排毒方加三七对肾衰竭血清瘦素、血脂、氧化应激及内皮功能的影响[J]. *中华中医药学刊*, 2025, 43(5): 243-246.
- [20] 冯 雪, 彭 斌, 高 智. 益肾排毒方治疗老年糖尿病肾病疗效及对 24 h 尿蛋白与  $\beta$ 2 微球蛋白的影响[J]. *辽宁中医杂志*, 2023, 50(3): 119-122.
- [21] 栗 睿, 王鹏飞, 杨秀炜. 益肾排毒方对腺嘌呤致慢性肾衰竭大鼠肾间质纤维化的影响[J]. *长春中医药大学学报*, 2017, 33(2): 195-197.

## 血必净注射液抗甲型流感病毒的体内外研究

韩甜甜<sup>1</sup>, 刘孝靖<sup>2</sup>, 赖艳妮<sup>3</sup>, 李丹华<sup>4\*</sup>

(1. 广州医科大学附属中医医院, 广东 广州 510000; 2. 广州医科大学中西医临床学院, 广东 广州 510000; 3. 顺德职业技术学院, 广东 佛山 528300; 4. 广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405)

**摘要:** **目的** 通过体内外实验探讨血必净注射液的抗病毒作用。**方法** 体外构建流感病毒感染 MDCK 细胞模型, 设置正常组、病毒组和血必净注射液 1.562 5、3.125、6.25、12.5、25、50 mg/mL 组, 同时设奥司他韦组为阳性对照; 采用 CCK-8 法检测细胞存活率以评估药物细胞毒性及细胞病变抑制效果, 噬斑减少实验检测病毒噬斑形成情况, RT-qPCR 法和 Western blot 法检测病毒核蛋白 (NP) mRNA 和蛋白表达, 对比预防性、同时性、治疗性 3 种给药方式 (均干预 48 h) 的抗病毒效果。体内建立 BALB/c 小鼠感染模型, 将 60 只小鼠随机分为正常组 (生理盐水滴鼻)、模型组 [滴鼻感染 2 $\times$ 半数致死量 (LD<sub>50</sub>) H1N1 病毒]、奥司他韦组 (每天 5 $\times$ 10<sup>-3</sup> mg/g 灌胃) 和血必净注射液低、高剂量组 (每天 5、10 mg/g 尾静脉注射), 每组 12 只, 感染后 2 h 开始给药, 每天 1 次, 连续 6 d; 采用生存实验记录 14 d 内小鼠存活情况, 检测肺指数、湿/干重比并进行肺组织病理评分, 流式细胞术检测血清肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-6 (IL-6) 水平, 噬斑法检测肺组织病毒滴度, Western blot 法检测肺组织 NP 蛋白表达。**结果** 体外实验显示, 血必净注射液 (1.562 5~50 mg/mL) 可抑制 MDCK 细胞病变, 减少噬斑形成, 降低 NP mRNA 和蛋白表达 ( $P<0.01$ ), 且治疗性给药模式效果最优。体内实验显示, 血必净注射液可提高感染小鼠存活率 (高剂量组 40%), 改善肺指数、湿/干重比及病理损伤 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), 降低炎症因子 IL-6、TNF- $\alpha$  水平和肺组织 NP 蛋白表达 ( $P<0.01$ )。**结论** 血必净注射液对甲型流感病毒具有明确抗病毒作用, 其机制可能是抑制病毒蛋白表达, 进而减轻肺部炎症损伤。

**关键词:** 血必净注射液; 甲型流感病毒; 抗病毒; 肺损伤; 炎症因子; 核蛋白 (NP)

**中图分类号:** R285.5

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1001-1528(2026)04-1350-08

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.04.041

**收稿日期:** 2025-06-03

**基金项目:** 广州市科学技术局市校院 (企) 联合项目 (2025A03J3342); 教务处-广医大一流专业建设项目-2025 年大学生创新训练项目 (02-408-2501-2398); 广州中医药大学第一附属医院-国家中医药传承创新中心科研专项 (2022QN15)

**作者简介:** 韩甜甜 (1991—), 女, 博士, 实习研究员, 从事中西医结合防治呼吸系统疾病的研究。E-mail: 1394551592@qq.com

\* **通信作者:** 李丹华 (1991—), 女, 硕士, 主管技师, 从事感染性疾病的实验室诊断研究。E-mail: 335687501@qq.com

甲型流感病毒是全球致死性疾病的主要病原体之一，对人类健康构成严重威胁<sup>[1-2]</sup>。急性肺损伤 (acute lung injury, ALI) 和急性呼吸窘迫综合征 (acute respiratory distress syndrome, ARDS) 是其致死主要原因，增加了临床救治难度，对现有治疗策略提出挑战<sup>[3-4]</sup>。尽管疫苗接种和神经氨酸酶抑制剂 (如奥司他韦) 是主要防控手段，但病毒变异株的频繁出现及耐药性问题，使得开发新型抗病毒药物成为亟待解决的医学难题<sup>[5]</sup>。

中医药在病毒性疾病治疗中具有多成分、多靶点的独特优势。血必净注射液是由红花、赤芍、川芎、当归、丹参 5 味中药组成的复方制剂，自 2009 年起用于重症甲型 H1N1 流感的临床救治<sup>[6-7]</sup>。前期临床研究显示，其可改善患者症状，降低炎症因子水平，调节免疫功能及改善凝血状态，但相关研究多聚焦炎症调控、微循环改善等，对其直接抗病毒作用的科学阐释仍不足<sup>[8-10]</sup>。血必净注射液所含的原儿茶醛、羟基红花黄色素 A、芍药苷等已被证实是具潜在抗病毒活性的成分，为其整体抗病毒效应提供了物质基础。明确血必净注射液对病毒复制、宿主损伤的作用，可为临床精准用药提供理论依据，拓展中药在感染性疾病治疗中的应用<sup>[11-13]</sup>。

## 1 材料

1.1 病毒与细胞 甲型流感病毒 A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) 和 MDCK 细胞购自广州呼吸健康研究院，在 9 日龄 SPF 鸡胚中培养，采用噬斑法测定病毒滴度。MDCK 细胞在含 10% 胎牛血清、100 U/mL 青霉素和 100 U/mL 链霉素的 DMEM 培养基中，于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 条件下培养。

1.2 试剂与药物 血必净注射液 (天津红日药业股份有限公司，国药准字 Z20039833，批号 2008291)；阳性对照药物磷酸奥司他韦 (上海源叶生物科技有限公司，批号 B3017)。CCK-8 试剂盒、Trizol 试剂、逆转录试剂盒、实时定量 PCR 试剂盒 (上海碧云天生物技术有限公司，批号 5892791001、18596026、M1901、CW0581M)；NP、GAPDH、 $\beta$ -actin 抗体 (美国 GENE Tex 公司，批号 40723-V08B、60004-Ig、1905061)；流式细胞微球阵列 (CBA) 小鼠细胞因子检测试剂盒 (美国 BD 公司，批号 552364)；DMEM 培养基、胎牛血清、青霉素-链霉素双抗 (美国 Gibco 公司，批号 31600、10099-141、1582957)；TPCK-胰蛋白酶、低熔点琼脂糖、结晶紫染色液 (美国 Sigma 公

司，批号 T1426、50002、20170216)。

1.3 实验动物 SPF 级 BALB/c 小鼠，6~8 周龄，雌雄各半，购自广州中医药大学实验动物中心 [实验动物生产许可证号 SCXK (粤) 2020-0085]，饲养于恒温恒湿环境，温度 (22±2)℃，相对湿度 (55±5)%，自由摄食饮水，动物实验经广州中医药大学实验动物伦理委员会批准 (批准号 20210114002)。BALB/c 小鼠感染模型的建立在 ABSL-2 实验室 (动物生物安全二级实验室) 中完成，实验操作严格遵循《实验室生物安全通用要求》(GB19489-2008) 及相关生物安全管理规定，确保实验人员安全及防止病毒扩散。

## 2 方法

2.1 细胞毒性实验 取对数生长期 MDCK 细胞，以每孔  $2 \times 10^4$  个的密度接种于 96 孔板，培养 24 h 后弃去培养基，加入含血必净注射液 (0、6.25、12.5、25、50、100、200、400 mg/mL) 的无血清 DMEM 培养基，每组设 6 个复孔。于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 48 h 后，每孔加入 10% CCK-8 试剂 100  $\mu$ L，继续培养 30 min，酶标仪测定 450 nm 波长处吸光度 (A) 值，计算细胞存活率，公式为细胞存活率 =  $(A_{\text{给药组}} - A_{\text{空白孔}}) / (A_{\text{正常组}} - A_{\text{空白孔}}) \times 100\%$ ，以半数中毒浓度 (TC<sub>50</sub>) 评估药物细胞毒性。

### 2.2 体外抗病毒实验

2.2.1 细胞病变效应 (CPE) 抑制实验 取对数生长期 MDCK 细胞，以每孔  $2 \times 10^4$  个的密度接种于 96 孔板，培养 24 h 后感染 100 组织半数感染量 (TCID<sub>50</sub>) 的 H1N1 病毒，吸附 2 h 后弃去病毒液，PBS 洗涤 3 次，加入含血必净注射液 (1.562 5、3.125、6.25、12.5、25、50 mg/mL) 及 2  $\mu$ g/mL TPCK-胰蛋白酶的维持培养基，每组设 5 个复孔。培养 48 h 后在显微镜下观察细胞病变效应 (CPE)，CCK-8 法检测细胞存活率，计算病毒抑制率。

2.2.2 噬斑减少实验 取对数生长期 MDCK 细胞，以每孔  $6 \times 10^5$  个的密度接种于 6 孔板，培养 24 h 后感染病毒液 (细胞上清或小鼠肺组织匀浆上清)，吸附 2 h 后弃去病毒液，PBS 洗涤 3 次，加入含 2.5  $\mu$ g/mL TPCK-胰蛋白酶的 1% 低熔点琼脂糖/DMEM 覆盖液，37℃ 培养 3~4 d。4% 多聚甲醛固定后，2% 结晶紫染色，计数噬斑数量，公式为噬斑抑制率 =  $[(\text{病毒组噬斑形成数量} - \text{药物组噬斑形成数量}) / \text{病毒组噬斑形成数量}] \times 100\%$ 。

**2.2.3 RT-qPCR 法检测病毒核蛋白 (NP) mRNA 表达** 收集各组细胞, 细胞用 TRIzol 裂解后, 样品于室温孵育 10 min, 收集并标记。用高纯 RNA 提取试剂盒提取总 RNA, 然后用逆转录试剂盒将总 RNA 逆转录为 cDNA。PCR 反应体系为 25  $\mu$ L, 包括 17  $\mu$ L RNA 模板、5  $\mu$ L M-mlV 5 $\times$ 反应缓冲液、50 pmol 引物、0.1 mmol/L dNTP、25 U RNase 抑制剂和 200 U M-mlV RT 聚合酶。PCR 扩增反应条件为 95  $^{\circ}$ C 预变性 3 min; 95  $^{\circ}$ C 变性 10 s, 60  $^{\circ}$ C 退火 10 s, 72  $^{\circ}$ C 延伸 20 s, 共 39 个循环; 最后 95  $^{\circ}$ C 延伸 10 s。以 GAPDH 为内参基因, 引物序列见表 1。

表 1 引物序列

| 基因    | 引物序列                          |
|-------|-------------------------------|
| NP    | 正向 5'-GCACCAAACGGTCTTACGAA-3' |
|       | 反向 5'-TTTGGATCAACCGTCCCTCA-3' |
| GAPDH | 正向 5'-AACATCATCCCTGCTTCCAC-3' |
|       | 反向 5'-GACCACCTGGTCTCAGTGT-3'  |

**2.2.4 Western blot 法检测病毒 NP 蛋白表达** 收集各组细胞, 细胞经裂解液冰上裂解 30 min, 4  $^{\circ}$ C、12 000 r/min 离心 15 min, 收集上清液并采用 BCA 法测定蛋白浓度, 根据蛋白浓度调整上样量, 加入 5 $\times$ SDS 上样缓冲液, 95  $^{\circ}$ C 煮沸 5 min 使蛋白变性。经 SDS-PAGE 凝胶电泳后, 采用湿转法将蛋白转印至 PVDF 膜, 5% 脱脂牛奶室温封闭 2 h, 随后依次加入 NP 抗体 (1:1 000)、GAPDH 抗体 (1:5 000), 4  $^{\circ}$ C 孵育过夜; 次日, TBST 缓冲液洗涤 3 次, 再加入 HRP 标记的二抗 (1:2 000), 室温孵育 1 h, TBST 缓冲液再次洗涤 3 次。最后采用 ECL 化学发光法显影, 用凝胶成像系统拍摄并分析蛋白条带灰度值。

**2.2.5 3 种给药方式** 将 MDCK 细胞接种于 6 孔板, 于 37  $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 条件下培养 24 h, 分为正常组、病毒组和血必净注射液组, 分别采用预防性给

药 (在药物孵育 2 h 后, 加入病毒)、同时给药 (将药物与病毒混合孵育 2 h, 然后加入细胞培养基中孵育 2 h)、治疗给药 (在病毒感染后向细胞中添加药物), 给药方式示意图见图 1。48 h 后, 收集细胞样品进行 Western blot 分析。

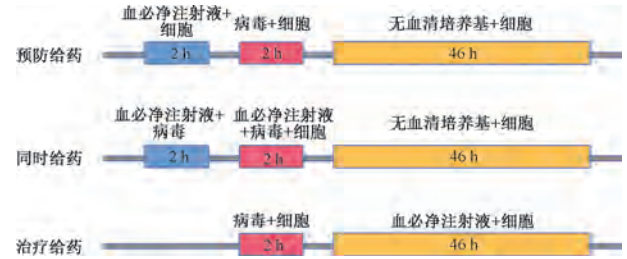


图 1 3 种给药方式示意图

2.3 体内抗病毒实验

**2.3.1 动物分组与给药** 将 60 只 BALB/c 小鼠随机分为正常组 (生理盐水滴鼻)、模型组 [滴鼻感染 2 $\times$ 半数致死量 (LD<sub>50</sub>) H1N1 病毒]、奥司他韦组 (每天 5 $\times$ 10<sup>-3</sup> mg/g 灌胃) 和血必净注射液低、高剂量组 (每天 5、10 mg/g 尾静脉注射), 每组 12 只, 感染后 2 h 开始给药, 每天 1 次, 连续 6 d。

**2.3.2 生存实验** 实验期间, 每天观察并记录小鼠体质量、饮食情况和症状, 记录 14 d 内每天的死亡数, 计算存活率和存活天数。

**2.3.3 肺损伤评价** 给药第 7 天, 处死小鼠, 收集相关样品进行分析, 包括体质量、肺湿重、肺干重和肺病理变化程度。计算小鼠的肺指数和湿/干重比, 公式为肺指数 = 肺质量/体质量 $\times$ 100%; 湿/干重比 = 肺湿重/肺干重。

将小鼠肺组织用 4% 多聚甲醛固定 48 h, 然后进行固定、脱水、透明、浸蜡、包埋、切片、苏木精-伊红 (HE) 染色, 最后用中性树胶封片。于显微镜下观察, 以双盲方式进行肺损伤评分。评分标准基于美国胸科学会 (2011) 建立的肺损伤评估标准, 详见表 2。

表 2 肺损伤评分标准

| 评分/分     | 肺泡结构                          | 间质炎症浸润                | 肺泡内渗出物                           |
|----------|-------------------------------|-----------------------|----------------------------------|
| 0 (无损伤)  | 肺泡结构完整, 腔隙大小均匀                | 无炎症细胞浸润               | 肺泡腔清晰, 无渗出物                      |
| 1 (轻度损伤) | 局部肺泡腔轻度扩张/塌陷, 累及范围 <25%       | 少量炎症细胞散在分布于间质         | 少量浆液/炎性渗出物, 累及 <25% 肺泡           |
| 2 (中度损伤) | 肺泡腔中度变形、融合, 累及范围 25% ~ 50%    | 中等量炎症细胞聚集, 间质轻度水肿     | 中等量渗出物填充肺泡, 累及 25% ~ 50% 肺泡      |
| 3 (重度损伤) | 肺泡广泛融合成肺大疱, 结构严重破坏, 累及范围 >50% | 大量炎症细胞弥漫浸润, 间质显著水肿、增厚 | 大量渗出物 (浆液、细胞碎片) 填充肺泡, 累及 >50% 肺泡 |

**2.3.4 流式细胞术检测血清炎症因子水平** 末次给药后 30 min, 小鼠称定体质量后麻醉, 酒精消毒

后腹主动脉取血, 血液室温静置 2 h, 4  $^{\circ}$ C、3 000 r/min 离心 10 min, 分离得到血清。采用流式细胞

术,按照试剂盒说明书进行测定,并通过CBA软件分析血清样本中肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-6 (IL-6) 水平。

2.3.5 肺组织病毒滴度检测 取左肺组织 30 mg 进行匀浆,离心后取上清液,采用噬斑法测定病毒滴度。

2.3.6 NP 蛋白表达检测 组织经裂解液裂解,提取总蛋白,按照“2.2.4”项下方法检测 NP 蛋白表达。

2.4 统计学分析 通过 SPSS 26.0 软件进行处理,实验数据以均数 $\pm$ 标准差 ( $\bar{x}\pm s$ ) 表示,组间比较采用单因素方差分析或 Shapiro-Wilk 检验,生存曲线比较采用对数秩检验。 $P<0.05$  表示差异具有统计学意义。

### 3 结果

#### 3.1 血必净注射液的体外抗病毒活性

3.1.1 细胞毒性 血必净注射液对 MDCK 细胞的  $TC_{50}$  为 82.75 mg/mL。在质量浓度  $\leq 50$  mg/mL 时,

细胞存活率均  $>80\%$ ,表明该浓度范围内药物无显著细胞毒性,见图 2。

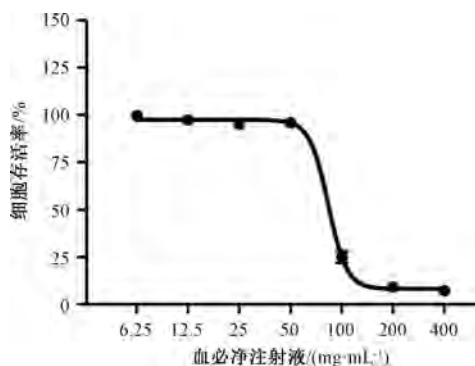


图 2 血必净注射液对 MDCK 细胞毒性的影响

3.1.2 CPE 抑制作用 显微镜下观察,病毒组 MDCK 细胞出现皱缩、融合及脱落等 CPE,而血必净注射液 (1.562 5~50 mg/mL) 可剂量依赖性减轻 CPE。50 mg/mL 组细胞形态接近正常,病毒抑制率达 (78.5 $\pm$ 3.2)% ,见图 3。

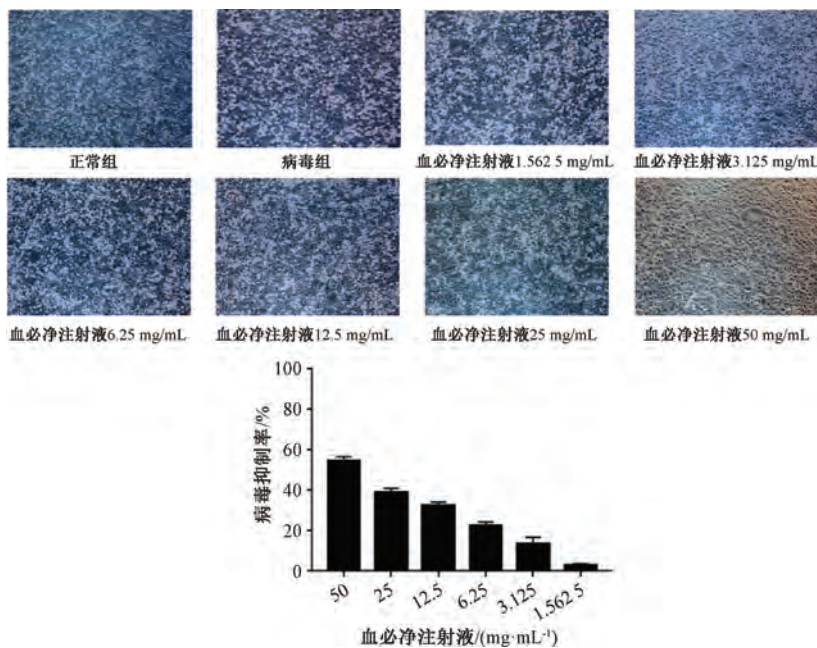


图 3 血必净注射液对流感病毒的抑制作用 ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

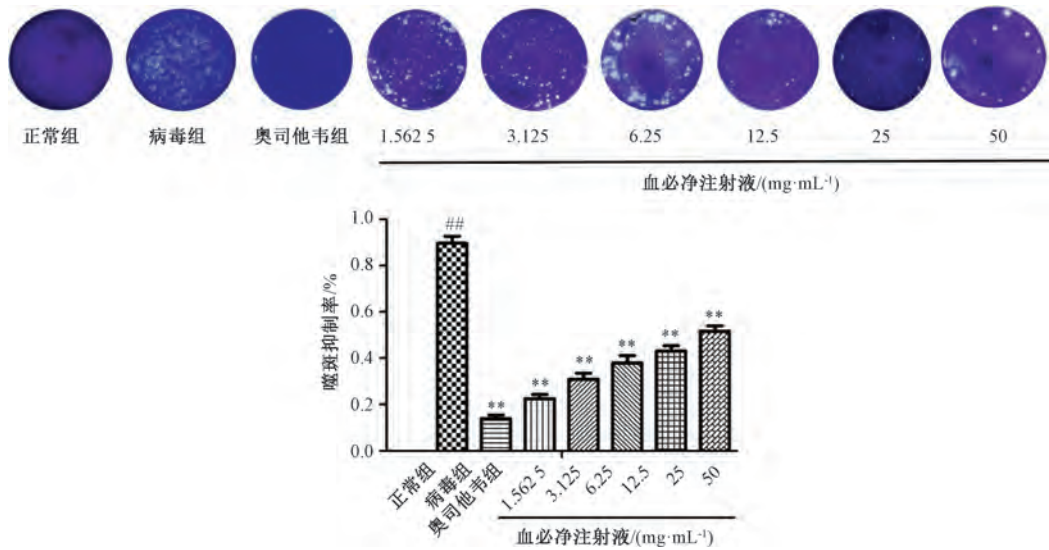
3.1.3 噬斑减少实验 血必净注射液可剂量依赖性地抑制病毒噬斑形成 ( $P<0.01$ )。50 mg/mL 时,噬斑抑制率为 (81.2 $\pm$ 4.1)% ,见图 4。

3.1.4 NP 表达抑制 RT-qPCR 和 Western blot 结果显示,与正常组比较,病毒组细胞 NP mRNA 和蛋白表达均升高 ( $P<0.01$ );与病毒组比较,血必净注射液 (1.562 5~50 mg/mL) 可剂量依赖性地降低 NP mRNA 和蛋白表达 ( $P<0.05, P<0.01$ ),见图 5。

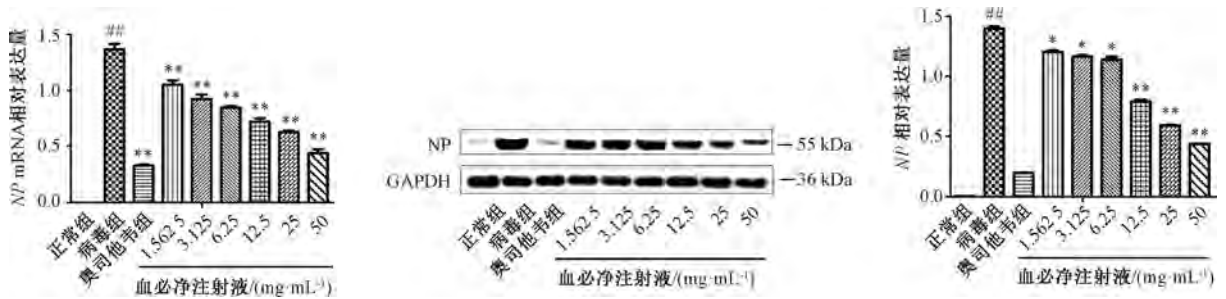
3.1.5 不同给药方式比较 与病毒组比较,预防、同时、治疗 3 种给药方式均可抑制 NP 蛋白表达 ( $P<0.01$ ),其中治疗给药对 NP 蛋白的抑制作用最强,见图 6。

3.2 血必净注射液对流感病毒感染小鼠的保护作用

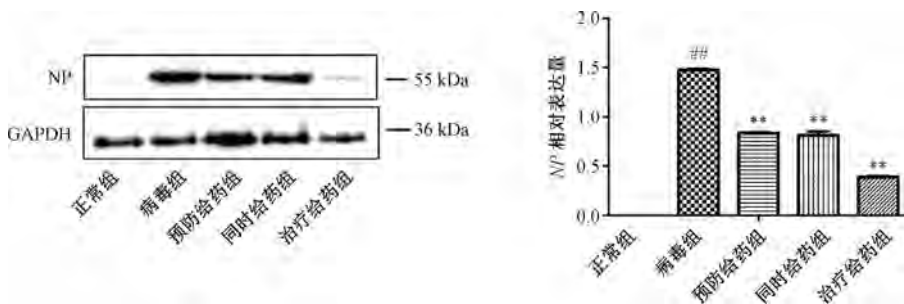
3.2.1 存活率与生存时间 模型组小鼠在感染后第 8 天开始死亡,14 d 存活率为 0%;血必净注射液高剂量组存活率为 40.0%,低剂量组为 20.0%,



注：与正常组比较， $##P<0.01$ ；与病毒组比较， $**P<0.01$ 。  
图4 血必净注射液对病毒斑块形成的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )



注：与正常组比较， $##P<0.01$ ；与病毒组比较， $*P<0.05, **P<0.01$ 。  
图5 血必净注射液对MDCK细胞NP mRNA和蛋白表达的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )



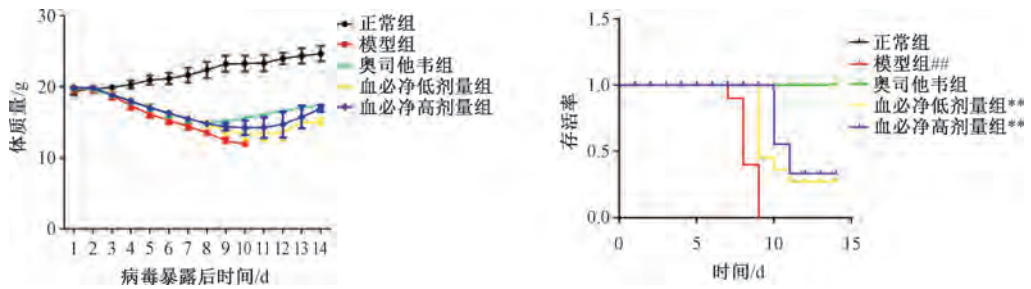
注：与正常组比较， $##P<0.01$ ；与病毒组比较， $**P<0.01$ 。  
图6 不同给药方式对NP蛋白表达的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

均高于模型组 ( $P<0.01$ )。高剂量组平均存活天数为  $(11.2\pm 1.5)$  d，较模型组  $(7.5\pm 0.8)$  d 延长 ( $P<0.01$ )，见图7。

3.2.2 肺组织损伤指标 与正常组比较，模型组小鼠肺指数和湿/干重比均升高 ( $P<0.01$ )；与模型组比较，奥司他韦组和血必净注射液各剂量组小鼠肺指数和湿/干重比均降低 ( $P<0.05, P<0.01$ )，图8。

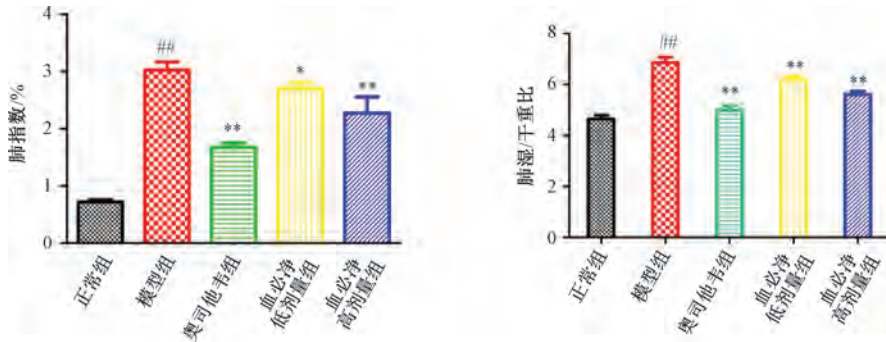
3.2.3 肺组织病理变化 HE染色显示，模型组肺组织可见肺泡壁增厚、中性粒细胞浸润、出血及透明膜形成，肺损伤评分高于正常组；与模型组比较，血必净注射液各剂量组肺泡结构改善，炎症细胞浸润和水肿减轻，肺损伤评分降低 ( $P<0.01$ )，见图9。

3.2.4 炎症因子水平 与正常组比较，模型组小鼠血清TNF- $\alpha$ 、IL-6水平升高 ( $P<0.01$ )；与



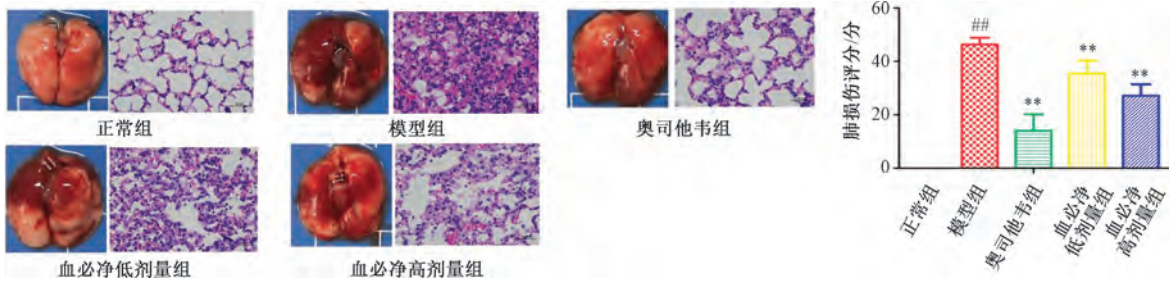
注：与正常组比较，<sup>##</sup> $P < 0.01$ ；与模型组比较，<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ 。

图7 血必净注射液对流感病毒感染小鼠体重及存活率的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )



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

图8 血必净注射液对流感病毒感染小鼠肺指数和湿/干重比的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

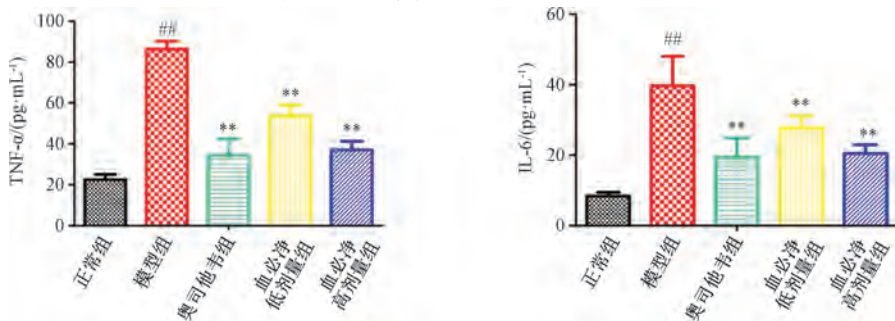


注：与正常组比较，<sup>##</sup> $P < 0.01$ ；与模型组比较，<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ 。

图9 血必净注射液对流感病毒感染小鼠肺组织病理学的影响 (HE,  $\times 400, \bar{x} \pm s, n = 6$ )

模型组比较，奥司他韦组和血必净注射液各剂量组小鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平降低 ( $P < 0.01$ )，

见图 10。



注：与正常组比较，<sup>##</sup> $P < 0.01$ ；与模型组比较，<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ 。

图10 血必净注射液对流感病毒感染小鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

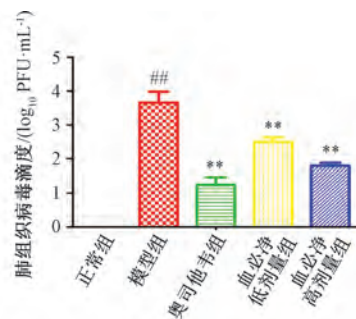
3.2.5 病毒滴度 模型组小鼠肺组织病毒滴度为  $(3.76 \pm 0.32) \log_{10}$  PFU/mL；与模型组比较，血必

净注射液高、低剂量组小鼠肺组织病毒滴度降低 ( $P < 0.01$ )，分别降至  $(2.15 \pm 0.21)$ 、 $(2.89 \pm$

0.25)  $\log_{10}$  PFU/mL, 见图 11。

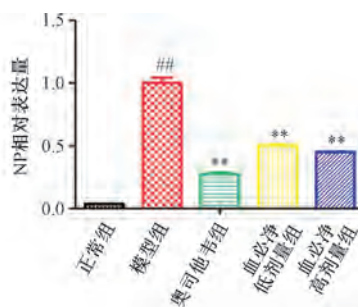
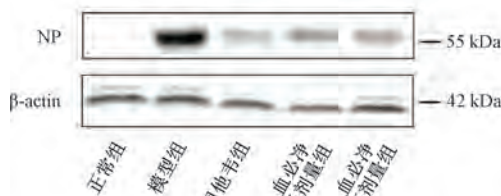
3.2.6 NP 蛋白表达 与正常组比较, 模型组小鼠肺组织 NP 蛋白表达升高 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比

较, 奥司他韦组和血必净注射液各剂量组小鼠肺组织 NP 蛋白表达降低 ( $P < 0.01$ ), 见图 12。



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

图 11 血必净注射液对流感病毒感染小鼠肺组织病毒滴度的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )



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

图 12 血必净注射液对流感病毒感染小鼠肺组织 NP 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

#### 4 讨论

本研究通过体内外实验系统证实血必净注射液对甲型 H1N1 流感病毒具有抗病毒活性, 并呈现“抑制病毒复制+减轻宿主肺损伤”的综合效应。体外实验中, 血必净注射液 (1.562 5~50 mg/mL) 可减轻 MDCK 细胞 CPE, 减少噬斑形成, 并剂量依赖性下调 NP mRNA 及蛋白表达。NP 是病毒核糖核蛋白复合物核心成分, 参与基因组包装、复制/转录及病毒装配释放, 并具有型/种特异性, 是分型诊断及疫苗、药物研发的重要靶点<sup>[13-14]</sup>。此外, 治疗性给药优于预防性与同时性给药, 提示其作用可能更偏向周期的复制/转录或蛋白合成等环节, 但仍需通过吸附、侵入及时间加药等实验进一步验证。该结果亦与部分中药以免疫调控为主的间接抗病毒模式不同<sup>[15]</sup>。

体内实验, 在致死剂量感染 BALB/c 小鼠模型中, 血必净注射液高剂量 (10 mg/g) 可提高存活率并延长生存时间, 同时降低肺组织病毒滴度与 NP 蛋白表达, 并可改善肺指数、湿/干重比及肺损伤评分, 提示其对病毒相关急性肺损伤具有保护作用。本研究亦发现, 血必净注射液可降低 IL-6、

TNF- $\alpha$  水平, 且与肺损伤指标呈正相关, 支持血必净注射液在抑制病毒复制之外, 还可通过抑制过度炎症反应实现“抗病毒+抗炎保护”的双重机制; 该机制特征与奥司他韦主要靶向神经氨酸酶的单一抗病毒作用存在差异, 为其作为重症流感综合治疗的潜在辅助药物提供依据<sup>[16]</sup>。

就疗效强度而言, 血必净注射液的直接抗病毒指标整体弱于奥司他韦, 但复方多成分协同可能带来更广谱的宿主保护效应。血必净注射液含羟基红花黄色素 A、丹酚酸 B、阿魏酸等活性成分, 既往研究提示其具有抗病毒或抗炎相关活性<sup>[3-4]</sup>, 其中羟基红花黄色素 A 可抑制神经氨酸酶影响病毒释放; 丹酚酸 B 可抑制某些病毒的膜融合过程, 但其对 H1N1 膜融合蛋白的影响仍待研究<sup>[17]</sup>; 阿魏酸可通过抗氧化减轻病毒诱导的细胞损伤。复方体系中上述成分可能共同构成抗病毒-抗炎网络, 但关键靶点及协同机制 (如是否影响 RIG-I/MDA5 通路或病毒蛋白翻译) 仍需进一步阐明<sup>[18-19]</sup>。

与马月霞等<sup>[20]</sup>报道“无明显死亡保护/直接抗病毒证据”不同, 本研究观察到一定死亡保护及滴度下降。差异可能跟小鼠品系与感染剂量、给药

途径与时机/疗程以及病毒学检测方法不同有关。2项研究均提示,血必净注射液可减轻肺组织病理损伤,说明其宿主保护效应较为稳定。

综上所述,本研究在体内外证据链上证明血必净注射液对甲型 H1N1 流感具有一定抗病毒活性,并能通过降低病毒负荷和炎症因子水平改善肺水肿与病理损伤,体现“抑制病毒复制+缓解过度炎症反应”的双重获益;其直接抗病毒强度虽总体弱于奥司他韦,但复方多成分可能带来更突出的宿主保护与综合治疗潜力。后续仍需在细胞或病毒亚型模型中验证,并通过作用阶段实验、关键成分与协同机制解析及临床研究进一步明确其最佳用药策略与适用人群。

#### 参考文献:

[ 1 ] Chen M, Shu W, Zhang J, et al. Mechanisms and clinical application of Xuebijing injection, a traditional Chinese herbal medicine—a systematic review[J]. *Adv Tradit Med*, 2024, 24: 403-412.

[ 2 ] Yu X, Niu W, Wang Y Y, et al. Novel assays for quality evaluation of XueBiJing: quality variability of a Chinese herbal injection for sepsis management[J]. *J Pharm Anal*, 2022, 12(4): 664-682.

[ 3 ] Song Y, Yao C, Yao Y, et al. XueBiJing Injection versus placebo for critically ill patients with severe community-acquired pneumonia: a randomized controlled trial[J]. *Crit Care Med*, 2019, 47(9): e735-e743.

[ 4 ] Zhu F, Yin S, Zhou L, et al. Chinese herbal medicine xuebijing injection for acute pancreatitis: an overview of systematic reviews[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 883729.

[ 5 ] Bonomini A, Mercorelli B, Loregian A. Antiviral strategies against influenza virus: an update on approved and innovative therapeutic approaches[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2025, 82(1): 75.

[ 6 ] 李丹华, 韩甜甜, 张战锋. 联合血必净注射液治疗重症病毒性肺炎的回顾性研究[J]. *时珍国医国药*, 2023, 34(5): 1161-1163.

[ 7 ] 张美琦, 王浩嘉, 李艺颖, 等. 血必净注射液对多种病毒的抑制作用及机制研究[J]. *药物评价研究*, 2022, 45(9): 1697-1705.

[ 8 ] Li J, Wang L, Li Z, et al. Clinical efficacy and mechanistic insights of Xuebijing in hand, foot, and mouth disease: a meta-analysis with integrated pharmacological approaches[J]. *Ann Med Surg (Lond)*, 2025, 87(7): 4414-4425.

[ 9 ] Li C, Wang P, Zhang L, et al. Efficacy and safety of Xuebijing injection (a Chinese patent) for sepsis: a meta-analysis of randomized controlled trials[J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 224: 512-521.

[ 10 ] Liao M, Zhang L, Bai L, et al. Xuebijing injection reduces COVID-19 patients' mortality as influenced by the neutrophil to lymphocyte platelet ratio[J]. *J Integr Med*, 2025, 23(3): 282-288.

[ 11 ] Mssillou I, El Abdali Y, Amrati F E, et al. Unlocking the therapeutic potential of protocatechualdehyde: pharmacological applications and mechanism insights[J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2025, 398(11): 15113-15139.

[ 12 ] 欧阳慧子, 何俊. LC-MS/MS测定血必净注射液中9种有效成分在大鼠体内血药浓度及药代动力学研究[J]. *中国中药杂志*, 2018, 43(17): 3553-3561.

[ 13 ] Peng R, Xu X, Nepal B, et al. Molecular basis of influenza ribonucleoprotein complex assembly and processive RNA synthesis[J]. *Science*, 2025, 388(6748): eadq7597.

[ 14 ] 李华蒙, 曹婷, 张妙娜, 等. 化湿败毒颗粒对香烟联合流感病毒诱导超氧化物与炎症的作用机制[J]. *时珍国医国药*, 2025, 36(22): 4261-4271.

[ 15 ] 刘惠煜, 董立, 郭腾徽, 等. 中医药防治呼吸道合胞病毒感染的作用机制研究进展[J]. *世界中医药*, 2025, 20(11): 1993-1999.

[ 16 ] 强晓钰. 中成药治疗病毒性肺炎的临床证据评价[D]. 天津: 天津中医药大学, 2023.

[ 17 ] 张紫璇, 高苑, 张利, 等. 中药防治急性肺损伤的活性成分及其作用机制研究进展[J]. *药学实践与服务*, 2025, 43(9): 421-426; 474.

[ 18 ] Zhang B, Xu S, Liu M, et al. The nucleoprotein of influenza A virus inhibits the innate immune response by inducing mitophagy[J]. *Autophagy*, 2023, 19(7): 1916-1933.

[ 19 ] Duan X, Wang N, Peng D. Application of network pharmacology in synergistic action of Chinese herbal compounds[J]. *Theory Biosci*, 2024, 143(3): 195-203.

[ 20 ] 马月霞, 郭亚丽, 刘建, 等. 血必净注射液干预甲型 H1N1 流感重症肺炎小鼠的疗效及机制研究[J]. *世界中医药*, 2015, 10(2): 243-246.