

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2016.18.014

实验研究

金欣口服液对 RSV 肺炎尿液代谢物的影响

孟欣, 单进军, 谢彤, 徐建亚, 沈存思, 汪受传*

(南京中医药大学中医儿科学研究所, 江苏省南京市栖霞区仙林大道 138 号, 210023)

摘要 目的 探讨金欣口服液治疗呼吸道合胞病毒 (RSV) 肺炎的可能作用机制。方法 将 48 只 BALB/c 小鼠随机分为正常组、RSV 肺炎模型组、金欣口服液组, 每组 16 只。RSV 肺炎模型组和金欣口服液组小鼠用 RSV 悬液滴鼻感染小鼠建立 RSV 肺炎模型。金欣口服液组予金欣口服液 27.6 g/(kg·d) 灌胃, 正常组和 RSV 肺炎模型组小鼠给予等量的生理盐水灌胃。连续灌胃至第 4 天每组处死 5 只小鼠进行病理学检查, 其他小鼠于第 6 天分别收集尿液, 运用 GC-MS 检测尿液中所含有的代谢物及其相对含量的变化。结果 RSV 肺炎模型组小鼠肺脏可见间质多灶性炎性浸润, 肺泡壁轻度充血, 明显增厚。金欣口服液组小鼠肺部炎症较 RSV 肺炎模型组小鼠肺部炎症明显减轻。RSV 肺炎小鼠的尿液中共测得 38 种代谢产物, 其中乳酸、甘氨酸、棕榈酸、硬脂酸为差异性代谢产物, RSV 肺炎模型组乳酸、甘氨酸、硬脂酸、棕榈酸相对含量明显高于正常组和金欣口服液组 ($P < 0.05$)。结论 金欣口服液可能通过调节体内能量代谢、氨基酸代谢、脂肪酸代谢治疗 RSV 肺炎。

关键词 呼吸道合胞病毒肺炎; 气相色谱-质谱联用; 尿液代谢物

呼吸道合胞病毒 (respiratory syncytial virus, RSV) 属于肺炎病毒属副粘病毒科, 为有包膜的单链负链 RNA 病毒, 是导致 3 岁以下婴幼儿急性下呼吸道感染最重要的病原体^[1]。利巴韦林能抑制病毒核酸的合成, 作为临床治疗 RSV 的主要药物, 其使用具有一定的局限, 可能引起溶血性贫血等不良反应^[2]。研究表明, 南京中医药大学中医儿科学研究所研制的金欣口服液可有效治疗 RSV 肺炎^[3-4], 但其机制仍有待进一步明确。中医学认为, 病毒性肺炎以痰热闭肺证居多, 约占 75%^[5]。热邪内灼, 津液煎熬, 故常见小便短赤。尿液作为机体内代谢产物的重要排泄途径, 其在疾病状态时也必然随之发生变化, 因此检测尿液中代谢物的变化对疾病诊断、药效评价等方面具有重要意义。

气相色谱-质谱联用 (GC-MS) 具有高效的分离能力和良好的灵敏度, 具备较完善的质谱数据库。采用适当的衍生化处理方法后, GC-MS 可以对复杂的生物样本进行有效的定性定量分析, 且操

作简便, 因此已成为联用技术中发展最完善、应用最广泛的仪器之一。本实验运用 GC-MS 技术分析金欣口服液干预前后小鼠尿液中代谢物相对含量的变化, 探讨其对 RSV 肺炎的作用机制。

1 材料与方法

1.1 细胞、病毒及动物

人喉癌上皮细胞 (HEP-2), 购自中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心。RSVA 亚型 (Long 株), 购自武汉国家典型培养物保藏中心。SPF 级 BALB/c 小鼠 48 只, 雌性, 体重 16 ~ 18g, 周龄为 4 ~ 6 周, 购自北京维通利华动物实验有限责任公司, 使用许可证号: SCXK(苏) 2012-0004。

1.2 药品和试剂

金欣口服液, 组成: 炙麻黄 3g, 苦杏仁 10g, 生石膏 20g, 桑白皮 10g, 葶苈子 10g, 黄芩 6g, 虎杖 12g, 前胡 10g, 按比例取药, 用 10 倍量水浸泡药物 30 min, 大火煮沸后再用小火煎煮 30 min, 取出药汁后, 药材中再加入 8 倍量水依上法煎煮, 合并两次药汁, 使用 EYEL4 型旋转蒸发仪 (上海爱朗仪器有限公司) 低压浓缩至生药浓度为

基金项目: 国家自然科学基金 (81373688, 81303295)

* 通讯作者: Wscnj@126.com, (025) 86798182

1. 351 g/mL 的金欣口服液。本次实验所用金欣口服液由南京中医药大学植物药与新药开发研究中心(江苏省植物药深加工工程中心)制备与质控,以麻黄中的麻黄碱及虎杖中的白藜芦醇的定性鉴别为质量控制标准。

甲醇(批号 1774807513, 纯度 $\geq 99.9\%$)购自德国 Merck 公司,正己烷(批号 SZBE1070V, GC 纯度 $\geq 99\%$)、甲氧铵盐(批号 BCBN2932V)、吡啶(批号 STBD3575V, 纯度 $\geq 99.8\%$)、含 1% 三甲基-氯硅烷(TMCS)的 N, O-双三甲基硅基三氟乙酰胺(BSTFA, 批号 BCBN4326V)、C8-C40 烷烃混标(批号 1408653V)、1, 2-43C 肉蔻酸(批号 SH2326V, 内标)均购自德国 SIGMA-ALORCH 公司,苏臻染色剂(批号: 15061870)购自江苏省无锡市江源实业技贸总公司,曙红 Y(批号: 20150115)购自上海沪试化工有限公司, L-谷氨酸(批号 LT90M31, 纯度 99%)、延胡索酸(批号 LU80M51, 纯度 99%)、甘氨酸(批号 L410N21, 纯度 98%)、L-天冬氨酸(批号 LCA0M32, 纯度 98%)均购自中国 J&K 百灵威公司。

1.3 仪器

DMIL 型倒置显微镜(德国 Leica 公司), MiniSpin 面包式离心机(德国 Eppendorf 公司), MCO-20 型 CO₂ 培养箱(日本 Sanyo 公司), Air-stream® A2 型二级生物安全柜(新加坡 ESCO 公司), Allegra64R 高速冷冻离心机(美国 BECKMAN 公司), Savant SPD1010 真空离心浓缩仪(美国 Thermo 公司), Trace1310/TSQ8000 气相色谱-质谱联用仪(美国 Thermo 公司), TG-5MS 毛细管色谱柱(0.25 $\mu\text{m} \times 0.25 \text{ mm} \times 30 \text{ m}$, 美国 Thermo 公司)。

1.4 RSV 扩增及半数细胞感染量(TCID₅₀)测定

体外培养 HEP-2 细胞以扩增 RSV, 具体方法参照文献[5]。病毒滴度测定采用 Reed-Muench 公式^[6], 本次实验病毒 TCID₅₀为 $10^{-4.038}/100 \mu\text{l}$ 。

1.5 动物分组及造模

将 BALB/c 小鼠饲养于南京中医药大学实验动物中心, 12 h 光照、12 h 黑暗环境下自由饮食。实验期间饲养室温度 18 ~ 22℃, 相对湿度为 50% ~ 60%。应用随机数字法将 48 只小鼠随机分为正常组、RSV 肺炎模型组、金欣口服液组, 每组 16 只。RSV 肺炎模型组、金欣口服液组小鼠在乙醚浅麻醉后 50 μl /只鼻腔滴注 $100 \times \text{TCID}_{50}$ 的 RSV 悬液, 每日滴鼻 1 次, 正常组给予同剂量的 DMEM 高糖培养

基, 待全部吸入鼻腔后放回笼中并记录时间^[6]。

1.6 给药及样本收集

金欣口服液组小鼠于首次滴鼻 2 h 后予金欣口服液 27.6 g/(kg · d) (相当于正常 2 岁儿童用量)灌胃, 正常组和 RSV 肺炎模型组小鼠给予等量的生理盐水。于第 4 天每组各处死 5 只小鼠, 每只均取右肺下叶行组织病理检查。各组中的剩余小鼠于第 6 天禁食 12 h, 并分别置于代谢笼中收集尿液, 置于 -80℃ 保存, 待测。

1.7 观察指标及方法

样品预处理: 将尿液样本置于室温下融化, 4℃、12000 r/min 离心 10 min, 取上清 200 μl , 加入含 30U 尿素酶水溶液 20 μl , 置于 37℃ 孵育 20 min, 然后加入 800 μl 冰甲醇(含内标 10 μg), 涡旋 10 min, 于 4℃、12000 r/min 离心 10 min, 吸取 200 μl 上清液, 置于离心浓缩仪中挥干 2 h。向每个尿液样本中加入 15 mg/mL 甲氧胺吡啶溶液 50 μl , 混匀 5 min, 室温下静置 16 h, 然后再加入 50 μl 的 BSTFA (含 1% TMCS), 混匀后静置 1 h。离心分离, 吸取上清液 60 μl 于玻璃内插管中, 供 GC-MS 进样分析。

GC-MS 分析条件: 色谱条件: 石英毛细管色谱柱(0.25 $\mu\text{m} \times 0.25 \text{ mm} \times 30 \text{ m}$), 程序升温条件为初始柱温 60℃, 保留 1 min, 以 20℃/min 升温至 320℃, 保留 4 min。进样口温度为 250℃, 载气为高纯氦气, 流量为 1.2 L/min, 柱前压为 100 kPa, 进样量为 1 μl , 分流模式(分流比为 20: 1)。进样口温度 250℃。质谱条件: 电离方式 EI, 碰撞能量为 70 eV, 离子源温度 280℃, 离子传输线温度 250℃, 溶剂延迟时间为 4 min, 扫描方式: 全扫描, 60 ~ 600 m/z。

1.7.1 肺脏组织病理学观察 将上述各组小鼠的右肺下叶用 4% 多聚甲醛固定 24 h, 然后脱水、包埋、切片。苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色后, 镜下观察病理学炎症改变。

1.7.2 数据采集与代谢物鉴定 运用 Xcalibur 2.0.7 数据处理系统进行, 小鼠尿液的 GC-MS 分析以获取总离子流图(TIC), 对同一个样品连续进样 6 次, 根据 TIC 中各峰的保留时间挑选、分离共有峰, 获取相对峰面积比值(各峰面积/内标峰面积)表示代谢物的含量。利用 NIST 标准谱图库检索及标准品比对方法鉴定代谢物。

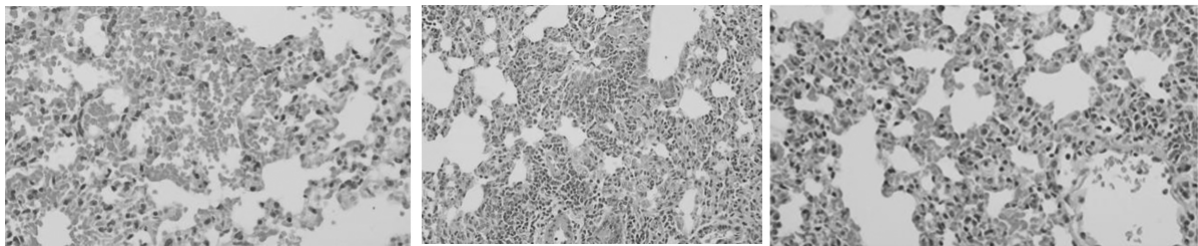
1.7.3 差异性代谢物的筛选 运用 SMCA-P 12.0 软件(Umetrics 公司, 瑞典)对尿液代谢物用正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA), 筛选变量投

影重要性指标即 $VIP > 1$ 的代谢物; SPSS 19.0 进行单因素方差分析, 分析各组间代谢物相对含量差异, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。同时满足 $VIP > 1$ 且 $P < 0.05$ 的物质即为差异性代谢物。

2 结果

2.1 各组小鼠肺组织病理学结果

图 1 示, 正常组小鼠肺泡结构清晰, 上皮完整, 肺泡壁毛细血管无扩张充血, 肺泡腔内可见较多红细胞, 间质少量慢性炎细胞浸润, 肺间隔及支气管完好。RSV 肺炎模型组小鼠肺脏可见间质多灶性炎细胞浸润 (++) , 以单核细胞、淋巴细胞为主; 肺泡壁轻度充血 (+) , 明显增厚。金欣口服液组小鼠肺脏间质可见少量炎性细胞浸润, 与 RSV 肺炎模型组小鼠肺脏相比, 该组小鼠的肺部炎症明显减轻。

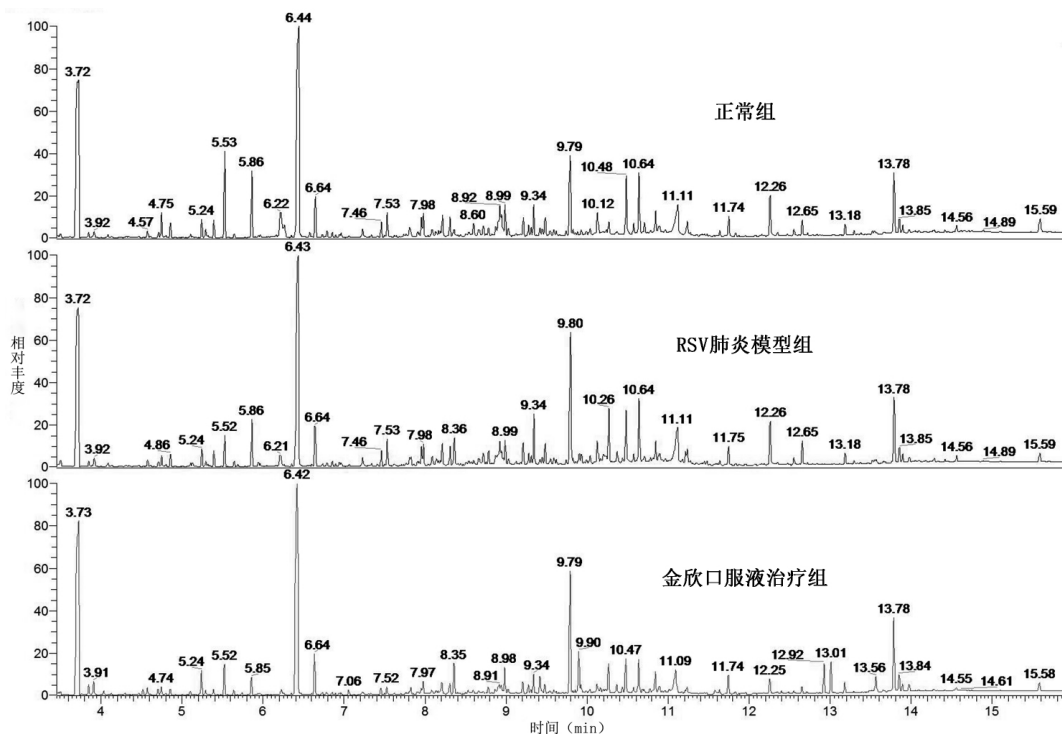


正常组

RSV 肺炎模型组

金欣口服液组

图 1 BALB/c 小鼠肺组织病理图 (HE 染色, 200 ×)



注: 横坐标代表时间轴 (min)

图 2 各组尿液样本 GC-MS 总离子流图

2.2 各组尿液样本 GC-MS 分析结果

尿液样本 GC-MS 分析总离子流图 (TIC) 如图 2 示。对同一个样品连续进样 6 次, 计算各相对峰面积的相对标准差 (RSD) 发现, 尿液样本其共有峰的 RSD 为 3.45% ~ 8.67% , 说明数据较稳定。

2.3 各组共有代谢物鉴定结果

利用 NIST 标准谱图库检索鉴定所分离的共有峰, 通常匹配度大于 800 且可能性大于 80% 的鉴定结果可信度较高^[8]。鉴定结果中有些峰的匹配度很高而可能性较低, 主要是同分异构现象及裂解规律相似导致。此外, 本实验室还对部分物质进行标准品比对鉴定。某些内源性代谢物由于和衍生化试剂发生反应的活性基团数目不同, 其保留时间和裂解产物亦不尽相同, 如甘氨酸等。尿液中共鉴定出 38 种共有代谢物, 具体见表 1。

表 1 各组小鼠尿液中的共有代谢物

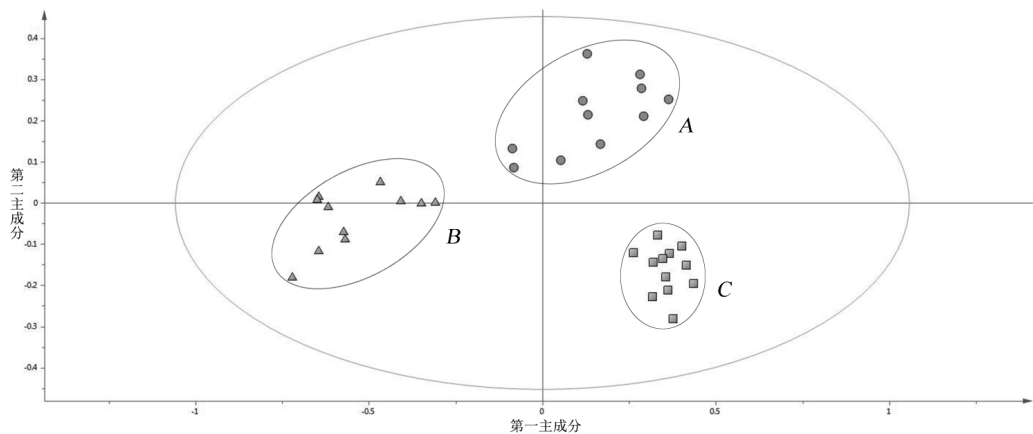
保留时间 (min)	匹配度	反向匹配度	可能性 (%)	可能的物质	代谢物
4.65	827	822	81.00	propanoic acid, 2-(methoxyimino), trimethylsilyl ester	丙酸*
4.75	928	929	37.06	D-(-)-lactic acid, trimethylsilyl ether, trimethylsilyl ester	乳酸*
5.29	934	942	77.68	ethanedioic acid	草酸
5.53	933	935	40.31	(n)-3-hydroxybutyric acid, trimethylsilyl ester, trimethylsilyl ester	羟基丁酸
5.87	874	874	43.97	propanedioic acid, bis(trimethylsilyl) ester	丙二酸
6.26	886	886	88.88	urea, N,N-bis(trimethylsilyl)-	尿素
6.43	861	876	88.92	silanol, trimethyl-, phosphate (3:1)	磷酸
6.64	841	849	71.73	butanedioic acid, bis(trimethylsilyl) ester	琥珀酸
6.79	885	909	85.13	propanoic acid, 2,3-bis[(trimethylsilyl)oxy]-, trimethylsilyl ester	甘油酸
7.46	923	927	80.66	(R*, S*)-3,4-dihydroxybutanoic acid TRITMS	丁酸
7.54	911	933	87.56	glycine, N-(1-oxobutyl)-, trimethylsilyl ester	甘氨酸*
7.76	806	839	79.68	D-(-)-citramalic acid, O-trimethylsilyl-bis(trimethylsilyl) ester	柠苹酸
7.83	855	877	92.79	butanedioic acid, [(trimethylsilyl)oxy]-, bis(trimethylsilyl) ester	苹果酸
7.95	834	886	91.91	glycine, N-(1-oxo-2-butenyl)-, trimethylsilyl ester	N-巴豆甘氨酸
7.98	925	939	40.86	meso-erythritol, tetrakis(trimethylsilyl) ether	赤藓糖醇
8.09	832	880	77.94	L-proline, 5-oxo-1-(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester	脯氨酸*
8.21	895	912	74.61	L-threonine, tris(trimethylsilyl) ether, trimethylsilyl ester	苏糖酸
8.37	879	892	96.76	pentanedioic acid, 2-(methoxyimino)-, bis(trimethylsilyl) ester	戊二酸
8.99	844	857	79.27	hexanedioic acid, 3-trimethylsiloxy-, bis(trimethylsilyl) ester	己二酸
9.21	930	931	48.61	D-(+)-Arabitol, pentakis(trimethylsilyl) ether	阿糖醇
9.34	802	862	56.58	1-propene-1,2,3-tricarboxylic acid, tris(trimethylsilyl) ester, (Z)-	乌头酸
9.48	884	940	78.55	phosphoric acid, bis(trimethylsilyl) 2,3-bis[(trimethylsilyl)oxy] propyl ester	磷酸
9.62	835	930	41.08	Ribonic acid, 2,3,4,5-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester	核糖酸
9.79	918	918	97.92	1,2,3-propanetricarboxylic acid, 2-[(trimethylsilyl)oxy]-, tris(trimethylsilyl) ester	柠檬酸*
9.91	890	899	91.68	glycine, N-benzoyl-, trimethylsilyl ester	马尿酸*
9.93	930	931	97.57	D-pinitol, pentakis(trimethylsilyl) ether	松醇
9.99	853	867	44.56	1,5-anhydro-D-sorbitol, tetrakis(trimethylsilyl) ether	1,5-脱水山梨醇
10.27	912	912	22.7	D-glucose, 2,3,4,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-, o-methyl-oxyne, (1Z)-	葡萄糖*
10.36	910	913	13.7	D-galactose, 2,3,4,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-, o-methyl-oxyne. (1E)-	半乳糖*
10.64	866	926	74.75	D-Gluconic acid, 2,3,4,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester	葡萄糖酸
10.68	790	872	88.65	L-lysine, N2, N6, N6-tris(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester	泛酸
10.84	828	855	80.55	hexadecanoic acid, trimethylsilyl ester	棕榈酸*
10.89	842	884	74.05	galactaric acid, 2,3,4,5,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-, bis(trimethylsilyl) ester	黏酸
11.17	867	873	53.69	N-acetyl-D-glucosamine, tetrakis(trimethylsilyl) ether, methoxime (syn)	乙酰葡萄糖胺
11.23	874	905	77.34	myo-inositol, 1,2,3,4,5,6-hexakis-O-(trimethylsilyl)-	肌醇*
11.75	869	904	92.13	octadecanoic acid, trimethylsilyl ester	软脂酸*
12.65	898	906	93.94	p-Tolyl-α-D-glucuronide, tris(trimethylsilyl) ether, trimethylsilyl ester	葡糖苷酸
13.18	813	884	89.96	hexadecanoic acid, 2,3-bis[(trimethylsilyl)oxy] propyl ester	单棕榈酸甘油

注: *, 经标准品鉴定的代谢物

2.4 代谢物谱模式分析

将尿液中代谢物的数据矩阵导入 SIMCA-P12.0 软件进行分析构建 OPLS-DA 模型。如图 3 所示, 模型参数 $R^2X = 0.955$, $R^2Y = 0.85$, $Q^2 = 0.746$, 说明该模型的建模能力和预测能力均较好, 正常

组、RSV 肺炎模型组、金欣口服液组可显著区分, 无交叉和重叠, 表明 RSV 肺炎干扰了小鼠尿液中某些物质的代谢, 造成小鼠尿液代谢指纹图谱发生显著变化。经金欣口服液治疗后, 受干扰的代谢物具有逐渐恢复至正常的趋势。



注: t_1 和 t_2 表示数据集在 OPLS-DA 第一主成分和第二主成分的得分; A, 正常组; B, RSV 肺炎模型组; C, 金欣口服液组

图 3 各组尿液中代谢物 OPLS-DA 图

表 2 各组小鼠差异性代谢物相对含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	乳酸	甘氨酸	硬脂酸	棕榈酸
正常组	11	8.19 ± 3.75	41.45 ± 13.30	8.62 ± 3.01	18.99 ± 1.93
RSV 肺炎模型组	11	11.13 ± 2.94*	50.89 ± 18.30*	9.69 ± 2.79*	21.35 ± 1.35*
金欣口服液组	11	7.86 ± 2.01 [△]	42.56 ± 17.55 [△]	6.75 ± 2.19 [△]	15.25 ± 1.04 [△]

注: 与正常组比较, * $P < 0.05$; 与 RSV 肺炎模型组比较, $\Delta P < 0.05$

为了寻找尿液中与金欣口服液治疗 RSV 肺炎作用相关的代谢物, 本研究分析基于 OPLS-DA 的变量投影重要性指标即 VIP 值, 发现乳酸、马尿酸、葡萄糖、甘氨酸、脯氨酸、硬脂酸、棕榈酸等代谢物的 VIP 值均大于 1, 可能与尿液代谢指纹图谱变化有关。

2.5 各组小鼠差异性代谢物相对含量比较

表 2 示, RSV 肺炎模型组乳酸、甘氨酸、硬脂酸、棕榈酸相对含量明显高于正常组和金欣口服液组 ($P < 0.05$)。

3 讨论

RSV 肺炎以痰热闭肺证居多, 主要病机在于风热之邪由表入里, 热与痰结, 阻于肺络, 以致肺气闭郁, 宣肃失司。治宜开郁宣闭, 清肺化痰。金欣口服液以麻杏石甘汤为基础, 加前胡以宣肺止咳, 桑白皮以肃肺平喘, 葶苈子以泻肺涤痰, 虎杖以解毒活血, 黄芩以清肺解热。RSV 肺炎多喘憋较甚, 机体的通气 and 换气功能障碍, 组织细胞缺血缺氧, 无氧代谢增加, 且清除乳酸的能力下降, 故 RSV 肺炎机体的尿液乳酸含量明显增高。予金欣口服液治疗后, 乳酸水平逐渐恢复至正常状态, 表明其可以改善机体的通气和换气功能, 纠正 RSV 肺炎的缺氧状态, 增强人体能量代谢。

在肺部的缺血再灌注损伤时, 甘氨酸可以减少细胞氧化损伤, 抑制细胞凋亡以减轻损伤^[1]。此外, 甘氨酸在调节白细胞分泌的细胞因子数量和免

疫功能方面还发挥着重要作用^[1-12], 可以激活免疫细胞的甘氨酸受体门控氯离子通道并超极化细胞膜, 包括巨噬细胞、单核细胞、淋巴细胞和嗜中性粒细胞^[1], 抑制脂多糖 (LPS) 刺激的小鼠肺泡巨噬细胞分泌前炎性细胞因子肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 和过氧化物^[12]。本研究发现, RSV 感染后小鼠尿液内甘氨酸排泄量较正常组小鼠增加, 可能和 RSV 感染导致机体免疫紊乱、缺氧缺血等有关。运用金欣口服液治疗后, 尿液中甘氨酸含量较 RSV 感染组下降, 逐渐向正常组转变, 表明机体内紊乱的免疫状态如免疫细胞及相关炎性细胞因子趋于平衡。

脂肪酸合成酶在 RSV 复制周期中发挥重要作用, 可以促使丙二酰辅酶 A 转化为棕榈酸。棕榈酸用于蛋白质酰基转移酶的翻译后修饰, 还可以被多种下游乙酰辅酶 A 合成酶、硬脂酰辅酶 A 脱氢酶等用于其他脂肪酸和脂质。当脂肪酸合成酶受到阻滞时, RSV 复制则减少^[13]。本研究发现, RSV 感染小鼠的尿液中棕榈酸的含量较正常组明显增高, 予金欣口服液治疗后棕榈酸的含量较 RSV 感染组小鼠下降, 逐渐恢复到正常状态。此外, RSV 感染时葡萄糖利用障碍, 脂类可能是机体能量的重要来源。因此, RSV 感染小鼠的尿液中棕榈酸、硬脂酸的含量均较正常组升高, 提示 RSV 感染后机体内存在脂肪酸代谢紊乱。运用金欣口服液干预

后, 棕榈酸和硬脂酸的含量逐渐恢复至正常, 表明金欣口服液可能调节体内紊乱的脂肪酸代谢。

综上所述, 乳酸、甘氨酸、棕榈酸、硬脂酸可能与金欣口服液的作用密切相关, 主要涉及能量代谢、氨基酸代谢、脂肪酸代谢途径, 为临床应用提供了理论依据。

参考文献

- [1] HARRIS J, WERLING D. Binding and entry of respiratory syncytial virus into host cells and initiation of the innate immune response [J]. Cell Microbiol, 2003, 5(10): 671-680.
- [2] SOOTA K, MALIAKKAL B. Ribavirin induced hemolysis: a novel mechanism of action against chronic hepatitis C virus infection [J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(43): 16184-16189.
- [3] 陈争光, 汪受传, 徐建亚, 等. 金欣口服液对 RSV 感染 BALB/c 小鼠 TLR3 信号转导通路负调控因子 SOCS1 表达的调控作用 [J]. 中国中西医结合杂志, 2014, 34(12): 1499-1506.
- [4] 李涛, 汪受传, 戴启刚. 金欣口服液对 RSV 感染 BALB/c 小鼠肺组织 TLR4 及 TAK1 表达的调控作用 [J]. 中成药, 2014, 36(2): 225-228.
- [5] 李佳曦, 汪受传, 徐建亚, 等. 金欣口服液含药血清及其有效单体白藜芦醇对 RSV 的 RNA 聚合酶转录活性的影响 [J]. 南京中医药大学学报, 2011, 27(1): 36-39.
- [6] CHEN ZG, LUO H, WANG SC, et al. Antiviral effects of Jinxin oral liquid against respiratory syncytial virus infection in the BALB/c mice model [J]. J Ethnopharmacol, 2015, 162: 287-295. doi: 10.1016/j.jep.2015.01.002.
- [7] 汪受传, 韩新民, 任现志, 等. 小儿病毒性肺炎 480 例中医证候学特点研究 [J]. 南京中医药大学学报, 2007, 23(1): 14-19.
- [8] REED LJ, MUENCH H. A simple method of estimating fifty percent endpoints [J]. Am J Epidemiol, 1938, 27(3): 493-497.
- [9] MAJOR HJ, WILLIAMS AJ, WILSON AJ, et al. A metabolomic analysis of plasma from Zucker rat strains using gas chromatography/mass spectrometry and pattern recognition [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2006, 20(22): 3295-3302.
- [10] OMASA M, FUKUSE T, TOYOKUNI S, et al. Glycine ameliorates lung reperfusion injury after cold preservation in an ex vivo rat lung model [J]. Transplantation, 2003, 75(5): 591-598.
- [11] FROH M, THURMAN RG, WHEELER MD. Molecular evidence for a glycine-gated chloride channel in macrophages and leukocytes [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2002, 283(4): G856-G863.
- [12] WHEELER MD, THURMAN RG. Production of superoxide and TNF-alpha from alveolar macrophages is blunted by glycine [J]. Am J Physiol, 1999, 277(5 Pt 1): L952-L959.
- [13] OHOL YM, WANG Z, KEMBLE G, et al. Direct inhibition of cellular fatty acid synthase impairs replication of respiratory syncytial virus and other respiratory viruses [J]. PLoS One, 2015, 10(12): e0144648.

Effects of Jinxin Oral Liquid (金欣口服液) on Urine Metabolites in RSV Pneumonia

MENG Xin, SHAN Jinjun, XIE Tong, XU Jianya, SHEN Cushi, WANG Shouchuan

(Institute of Chinese Pediatrics of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing, 210023)

ABSTRACT Objective To explore the possible functional mechanism of Jinxin Oral Liquid (金欣口服液) on respiratory syncytial virus (RSV) pneumonia. **Methods** Forty-eight 48 BALB/c mice were randomly divided into a normal group, a RSV pneumonia group, and a Jinxin Oral Liquid group, with 16 mice in each. The RSV pneumonia group and the Jinxin Oral Liquid group accepted RSV suspension nasal drip to infect mice to build RSV pneumonia model. The Jinxin Oral Liquid group was given Jinxin Oral Liquid 27.6 g/ (kg · d) for gavage. The normal group and the RSV pneumonia group were given saline with equal dose for gavage. Five mice in each group were executed for pathological examination on the fourth day. Urine sample of other mice were collected on the sixth day respectively and GC-MS was adopted to examine urine metabolites and the changes of its relative levels. **Results** There were mesenchymal multifocal inflammatory infiltrations, slight hyperaemia and remarkable thickness in alveolar wall in the lung of RSV pneumonia model mice. The lung inflammation in the Jinxin Oral Liquid group remarkably decreased compared with that in the RSV pneumonia group. There were 38 types of metabolites examined in urine of mice in the RSV pneumonia group, among which lactic acid, glycine, palmitic acid and stearic acid were variant metabolites. In the RSV pneumonia group, the relative levels of lactic acid, glycine, palmitic acid and stearic acid were remarkably higher than that in the normal group and the Jinxin Oral Liquid group ($P < 0.05$). **Conclusion** Jinxin Oral Liquid could cure RSV pneumonia by means of regulating energy metabolism, amino acid metabolism and fatty acid metabolism. **Keywords** respiratory syncytial virus (RSV) pneumonia; GC-MS; urine metabolites

(收稿日期: 2015-12-30; 修回日期: 2016-04-26)

编辑: 王利芬