

348-351

6884(10)

维普资讯 http://www.cqvip.com

空心莲子草口服治疗乳鼠流行性出血热 病毒感染的研究

肖红 杨占秋 文莉

(湖北医科大学病毒研究所, 武汉 430071)

刘焱文

(湖北中医学院, 武汉 430060)

R512
R259.128
R286

A

提 要 空心莲子草经口服治疗流行性出血热病毒(EHFV)感染的乳鼠。结果显示, 5、7.5、10.0 mg 三个剂量组的存活率各为 80%、72.2% 和 40.0%, 平均存活天数(MTD)为 56.5 ± 0.9 、 53.5 ± 1.1 和 41.5 ± 2.7 d, 而病毒对照组的存活率为 0.0%, MTD 为 26.3 ± 0.8 d, 经该药治疗的感染鼠体内的 EHFV 抗原表达减少, 而未经治疗的感染乳鼠体内的 EHFV 抗原则在全病程中都显示出较强的表达。治疗组抗病毒效果类似于病毒唑, 且口服病毒唑毒性小。说明空心莲子草在体内对 EHFV 感染鼠有治疗作用。

关键词 出血热病毒, 乳鼠, 空心莲子草

流行性出血热, 病毒感染, 中药治疗, 动物模型

1987年我们研究发现空心莲子草的铅盐沉淀物Ⅲ在细胞内有抗 EHFV 的作用^[1]。进一步研究发现该药经腹腔注射对 EHFV 感染乳鼠有保护作用^[2]。为了采取多途径给药, 我们利用已建立的乳鼠感染 EHFV 的动物模型, 进一步研究了该药经口服在体内对 EHFV 感染鼠的治疗作用。

材料和方法

- 1 动物 昆明种, 2~3 日龄乳鼠, 由本院动物室提供。
- 2 病毒 EHFV_{H-114} 株, 系我室从患者尿液分离到^[3]。LD₅₀ 为 10⁶/0.1 mL。
- 3 药物 空心莲子草提取分离参见文献^[4]。阳性对照药物病毒唑为湖北天门制药厂生产, 批号为 881203。
- 4 实验研究与分组 将 EHFV 注入 3 日龄内乳鼠脑内, 0.02~0.04 mL/只, 于接种病毒 72 h 开始进行空心莲子草治疗(灌胃)。给药剂量分别为 5、7.5、10 mg/(g·d), 即 A、B、C 三组。疗程 10 d。用药剂量指生药提取物的含量。以病毒唑作为阳性药物对照, 剂量为 0.02 和 0.08 mg/(g·d), 口服和皮下注射两种途径对感染鼠进行治疗, 疗程 10 d。分为 A₁、B₁ 和 A₂、B₂ 四组, 病毒对照组为乳鼠感染病毒后不治疗。另设正常对照组。
- 5 病毒抗原检测 各组实验动物死亡后立即取材, 未死亡者观察 60 d 处死, 收集脑、心、肺、肝、脾、肾、用直接免疫荧光法(IF)检查其病毒抗原消长, 参见文献^[5]。

本文于 1996 年 5 月 16 日收到, 1996 年 7 月 22 日修回

结 果

1 感染鼠的基本特征

在病毒感染乳鼠后的第11~15天(给药10d)疗程期内,感染动物均出现发病特征,表现为发育瘦小、体重减轻、耸毛、屈脊、尾强直、后肢瘫痪、反应性增强、发病后3d左右衰竭死亡。药物治疗组的乳鼠的平均发病时间晚于病毒对照组,仅有部分动物出现症状,其发病特征类似于上述病毒对照组,但症状轻,部分动物发病后又恢复正常。正常对照组则均未出现上述症状。

2 空心莲子草对感染乳鼠存活率及存活时间的影响

EHFV感染鼠经空心莲子草治疗后,存活率提高,平均存活时间(MTD)延长,结果见表1。

表1 空心莲子草与病毒唑对 EHFV 感染鼠存活率及 MTD 的影响

Table 1 The effect of *Alternanthera philoxeroides* Griseb (APG) on survival rate and MTD in suckling mice infected EHF virus

组别 Group	剂量 Dosage [mg/(g·d)]	存活数/实验动物数 No. survival/total	存活率 Rate of survival (%)	平均存活天数 MTD(XD)
空心莲子草 APG、				
A	5	16/20	80.0	56.5±0.9
B	7.5	13/18	72.2	53.5±1.1
C	10.0	8/20	40.0	41.5±2.7
病毒唑 Riba-virin				
A ₁	0.02	13/20	65.0	52.6±0.8
B ₁	0.08	12/19	63.2	49.4±1.7
A ₂	0.02	14/16	87.5	56.5±2.0
B ₂	0.08	2/9	22.2	31.4±1.4
病毒对照 Control of virus		0/9	0.0	26.3±0.8
正常对照 Normal		11/11	100.0	60.0

A₁、B₁ 口服给药组(Oral administration)

A₂、B₂ 注射给药组(Injection administration)

从表1中可以看出,A组的存活率及MTD较C组高,并显示出统计学差异, $P<0.05$,但与B组相比,则无统计学差异。

在阳性药物对照组中,口服用药的A₁、B₁两组之间,比较其存活率及MTD并无统计学差异, $P>0.05$,但注射用药的A₂、B₂两组之间,则显示出统计学差异, $P<0.05$ 。从口服和注射两组中可看出0.02 mg/(g·d)的剂量较0.08 mg/(g·d)的效果要好。比较用药途径,当药物浓度为0.02 mg/(g·d)虽然注射用药组的存活率及MTD高于口服给药组,但无统计学差异, $P>0.05$;当药物浓度增至0.08 mg/(g·d)时,注射给药组的存活率及MTD低于口服给药组,并有统计学差异, $P<0.05$ 。此结果提示通过口服给药途径可以降低药物的毒性,并具有注射给药途径同样的抗病毒效果。

从表中还可看出,未经空心莲子草和病毒唑治疗的病毒感染鼠,其存活率为0.0%,MTD为26.3±0.8,明显低于空心莲子草及病毒唑治疗鼠。

3 空心莲子草对感染鼠脏器内病毒抗原的影响

在病毒感染后的第2周, A、B、C 三组感染鼠的脑、肾和肺组织内病毒抗原的释放均达到高峰, 表现为阳性荧光细胞数多, 荧光强度增强。在治疗晚期(7~8周), A 组病毒抗原消失, B 组仅肾脏抗原消失, C 组在整个疾病全过程中均可检出病毒抗原, 但强度则逐渐减弱。心、肝、脾组织内病毒抗原的释放与脑、肺、肾一样, 均在病毒感染后第2周达到高峰, 在治疗晚期, 病毒抗原均消失。病毒对照组感染鼠的所有脏器内的病毒抗原则在全病程中都显示出较强的表达。

4 空心莲子草对正常鼠存活率及 MTD 的影响

在进行空心莲子草抗病毒研究的同时, 我们采用相同的治疗方案、相同的剂量与疗程的药物对未感染病毒的正常鼠进行治疗, 结果见表2。从表2可以看出, 5, 7.5 mg/(g·d) 治疗的乳鼠存活率和 MTD 相同, 但与 10 mg/(g·d) 治疗鼠比较, 存活率及 MTD 均显示出统计学差异。在病毒唑组低浓度时(0.02 mg/(g·d)), 口服与注射组鼠存活率及 MTD 均无差异, 但增加浓度时(0.08 mg/(g·d)), 注射用药组的动物存活率及 MTD 均低于口服给药组, $P < 0.05$, 表明空心莲子草或病毒唑剂量过大, 均对动物有毒性。

表2 空心莲子草与病毒唑对正常鼠存活率及 MTD 的影响
Table 2 The effect of *Alternanthera philoxeroides* Griseb (APG) on survival rate and MTD in healthy suckling mice

组别 Group	剂量 Dosage [mg/(g·d)]	存活数/实验动物数 No. survival/total	存活率 Rate of survival (%)	平均存活天数 MTD(XD)
空心莲子草 APG				
A	5	6/6	100.0	60.0
B	7.5	6/6	100.0	60.0
C	10.0	4/6	66.7	54.6 ± 1.2
病毒唑 Ribavirin				
A1	0.02	6/6	100.0	60.0
B1	0.08	6/6	100.0	60.0
A2	0.02	6/6	100.0	60.0
B2	0.08	4/6	66.7	48.7 ± 0.9
正常对照 Normal		11/11	100.0	60.0

A₁、B₁ 口服给药组(Oral administration)

A₂、B₂ 注射给药组(Injection administration)

讨 论

本实验中动物规律性地发病死亡, 且在发病动物的主要脏器可检出病毒抗原, 而正常对照组则均未发病死亡。从这一结果不难看出 EHFV 感染乳鼠的动物模型已成功地建立, 它为抗 EHFV 药物疗效的评价提供了可靠的条件。

病毒对照组动物在实验全过程中, 其脏器的 EHFV 抗原始终显示出较强的表达。在治疗早期, 各组动物主要脏器内的病毒抗原均达到高峰; 到治疗晚期, 病毒抗原消失或有不同程度

的减弱。这说明该药能清除脏器中的病毒抗原和减少抗原的形成。

空心莲子草治疗乳鼠的存活率及MTD高于病毒对照组和阳性药物对照组,并且比腹腔注射给药的效果好^[2]。表明口服空心莲子草治疗乳鼠EHFV感染是有效的,这一结果也证实了我们以往关于该药在体外(细胞内)有抗EHFV作用的结论。因此我们认为该药是一种很有希望过渡到临床的治疗EHFV的一种新药。

从表1、表2也可看出,5、7.5 mg/(g·d)的剂量效果较好,而剂量增加后,抗病毒作用并没有增加,从表2也可看出该药剂量增加仍然有毒性,因为我们所用的药物为生药,它包含有其它非有效成分。因此,除去非有效成分是该药质控标准研究的课题内容之一。

参 考 文 献

- 1 杨占秋,刘焱文,刘建军等.空心莲子草有效部分的分离及抗病毒作用.中国中药杂志,1989,14:40
- 2 曲春枫,杨占秋,刘焱文等.空心莲子草有效部分体内抗流行性出血热病毒的实验研究.中华实验和临床病毒学杂志,1993,7(1):55
- 3 杨占秋,朱宝莲,张美英等.流行性出血热患者血浆和尿液中EHFV的分离与鉴定.湖北医学院学报,1988,9(4):301
- 4 Kreis W, Kaplan MH, Freeman J *et al.* Inhibition of human immunodeficiency virus replication by hyssop officinalis extracts. Antiviral Res, 1990, 14:323
- 5 Lee HW, Lee PW, Johnson KM. Isolation of the etiological agent of Korean hemorrhagic fever. J Infect Dis, 1978, 137:298

Pharmacodynamics Studies of *Alternanthera philoxeroides* Griseb in Oral for EHFV Infection in Suckling Mice

Xiao Hong Yang Zhanqiu Wen Li

(Virus Research Institute, Hubei Medical University, Wuhan 430071)

Liu Yanwen

(Hubei Traditional Medical College, Wuhan 430060)

Antiviral effect of *Alternanthera philoxeroides* Griseb (APG) was studied in oral for epidemic hemorrhagic fever virus (EHFV) infection in suckling mice. The APG dosages of A, B and C groups were 5 mg/(g·d), 7.5 mg/(g·d) and 10 mg/(g·d), respectively. The results showed that the survival rate of A, B and C group were 80.0%, 72.2% and 40.0%, the means time day (MTD) were 56.5 ± 0.9 , 53.5 ± 1.1 and 41.5 ± 2.7 day, respectively. The survival rate and MTD were 0.0% and 26.3 ± 0.8 day in untreated viral control group. The antiviral effect of the APG was similar with the ribavirin. This indicated that the APG was effective in treatment of epidemic hemorrhagic fever.

Key words Hantavirus, *Alternanthera philoxeroides* Griseb, Sucking mice