

黄芪 A6 组分对流感病毒感染小鼠的防治作用*

左丽 陈力** 唐晓敏** 郭辉玉***

(贵阳医学院免疫学教研室, 贵阳 550004)

R282.710.7
R259.117

A 摘要 用黄芪生药 1250~5000 mg/kg, 连续给药小鼠 5 d, 其 A6 组分对 100 LD₅₀ 或 100 ID₅₀ 感染的 BALB/C 小鼠都有明显的预防和治疗作用, 可降低感染幼鼠的死亡率和延长其平均存活天数; 降低感染成年鼠的肺湿重。经 X² 和 t 检验, 有显著性差异。且预防效果优于治疗。早期给药疗效较好。

关键词 黄芪, 流感病毒, 小鼠, 药物有效部份
流行性感冒病毒; 感染, 防治

流行性感冒病毒(流感病毒)由于容易发生变异而易导致流行性感冒(流感)的流行, 目前尚无疗效肯定的药物。传统中药黄芪味甘主温, 可祛湿热。现代医学实验表明, 黄芪可增强吞噬细胞的吞噬能力, 促进淋巴细胞转化, 提高机体免疫功能^[1]; 对柯萨奇 B₁、埃柯病毒 19 型^[2] 和单纯疱疹病毒^[3] 均有抑制作用。在发现黄芪 A6 组分对流感病毒有较强直接抑制作用的基础上(全文另发), 我们又进行了黄芪 A6 组分防治流感病毒感染 BALB/C 小鼠的研究, 为进一步开发利用黄芪提供科学依据。

器材与方法

- 1 黄芪 A6 组分(A6)
黄芪购于贵州省药材公司。鉴定为内蒙黄芪 [*Astragalus membranaceus* Bge. var. *mongolicus* (Bge.) Hsiao], 用改进方法^[4] 提取 A6 提取率约 1.5%, 按黄芪生药量计算 A6 浓度(下同)。
- 2 流感病毒 FM₁ 株(FM₁)
流感病毒 FM₁ 小鼠适应株为本室保存毒株。
- 3 BALB/C 小鼠
引种于中国预防医学科学院, 本科研组饲养繁殖。体重 10 ± 2 g/只(幼鼠)和 20 ± 2 g/只(成年鼠), 雌雄随机。
- 4 方法
 - 4.1 FM₁ 的传代与保存 9 日龄鸡胚尿囊腔接种病毒, 常规培养, 48 h 收集尿囊液; 将此尿囊液滴鼻感染幼鼠, 解剖感染后第 5 天幼鼠, 将充血肺脏取出, 研磨器制成匀浆; 再接种 9 日龄鸡胚, 收集尿囊液测得血凝效价为 1:2560, 小管分装, -30℃ 保存。
 - 4.2 FM₁ 对小鼠的毒性作用
 - 4.2.1 FM₁ 对幼鼠半数致死量(LD₅₀)的测定 取幼鼠 84 只, 随机平均分成 6 组; Hanks 液稀释 FM₁ 为 10⁻² ~ 10⁻⁶ 5 个稀释度, 每只小鼠经乙醚麻醉后分别滴鼻感染不同稀释度病毒液 0.1 mL, 设 Hanks 液代替病毒对

收稿日期: 1997-01-20, 修回日期: 1997-04-22
 * 本课题受贵州省科委基金资助
 ** 本院药系 93 级、检验系 94 级学生
 *** 中山大学微生物学教研室, 广州 510089

照。24 h 内死亡小鼠不计入致死总量(下同)。连续 10 d 观察记录小鼠发病死亡情况。计算得出 FM₁ 对幼鼠的 LD₅₀ 为 $10^{-5.37}/0.1 \text{ mL}$ 。

4.2.2 FM₁ 对成年鼠半数感染量(ID₅₀)测定 取成年鼠 70 只,随机平均分成 5 组;Hanks 液稀释 FM₁ 为 $10^{-2} \sim 10^{-5}$ 个稀释度,每只小鼠经麻醉后分别滴鼻感染不同稀释度病毒液 0.1 mL,设稀释液代替病毒对照。解剖感染 24 h 后死亡小鼠;未死亡小鼠于第 6 天解剖并观察小鼠肺脏病变情况,称其肺湿重;按肺充血面积达 100%、75%、50% 和 25% 计为 III、II、I 和 +,表示被感染程度。以 50% 成年鼠肺感染程度达 II 或以上计算 FM₁ 对成年鼠的 ID₅₀, 结果为 $10^{-3.13}/0.1 \text{ mL}$ 。

4.3 A₆ 对小鼠的毒性作用 取幼鼠和成年鼠各 60 只,分别随机分成 5 组。用 Hanks 液将 A₆ 按黄芪生药浓度稀释为 5000、2500、1250 和 625 mg/kg 4 个稀释度,每只小鼠分别滴鼻 0.1 mL,连续给药 5 d,首次给药后连续 10 d 观察记录小鼠活动、死亡情况,并设 Hanks 液代药对照。结果表明,A₆ 对幼鼠和成年鼠的最小无毒剂量均大于 5000 mg/kg × 5 d。

4.4 A₆ 对 FM₁ 感染幼鼠的预防、治疗作用 取幼鼠分为预防、早期治疗和治疗 3 个实验组;每组再随机平均分为不同剂量的 4 个给药组,于感染 100 LD₅₀ FM₁ 前 24 h,感染即时和感染后 24 h 分别滴鼻给予不同剂量药物,均连续给药 5 d,观察 A₆ 对 FM₁ 感染幼鼠的防治效果。同时设感染后不治疗、药物最大治疗剂量和正常饲养组对照,每组 14 只小鼠。观察方法、指标同 FM₁ 对幼鼠 LD₅₀ 测定。

4.5 A₆ 对 FM₁ 感染成年鼠的防治作用 取成年鼠 190 只,实验分组、方法同 A₆ 对 FM₁ 感染幼鼠的防治作用;观察方法、指标同 FM₁ 对成年鼠的 ID₅₀ 测定。

结 果

1 A₆ 对 FM₁ 感染幼鼠的防治效果

A₆ 对 FM₁ 感染幼鼠的防治效果见表 1。可看出,黄芪生药剂量为 1250~5000 mg/kg 时,

表 1 A₆ 对 FM₁ 感染幼鼠的防治作用

Table 1 The preventive and curative effects of A₆ on the infantile mice infected with influenza virus FM₁ strain

处 置 Treatment	药物剂量 Drugs doses (mg/kg·d × 5)	死亡数(只)/实验数(只) No. dead/No. tested	死亡率 Mortality (%)	P	平均存活天数 MSD ($\bar{X} \pm \text{SD}$)
预防 Prevention	5000	3/14	21.43	<0.001	9.24 ± 3.32
	2500	4/14	28.57	<0.001	9.08 ± 4.09
	1250	8/14	57.14	<0.01	8.36 ± 2.78
	625	11/14	78.57	<0.05	6.20 ± 3.59
早期治疗 Early treatment	5000	4/14	28.57	<0.001	8.96 ± 3.41
	2500	6/14	42.88	<0.001	8.36 ± 2.98
	1250	8/14	57.14	<0.01	7.88 ± 3.57
	6.25	12/14	85.71	>0.05	5.96 ± 4.06
治疗 cure	5000	4/14	28.57	<0.001	8.84 ± 2.88
	2500	7/14	50.0	<0.001	7.96 ± 4.29
	1250	10/14	71.43	<0.05	6.73 ± 3.64
	625	13/14	92.85	>0.05	5.36 ± 3.58
100LD ₅₀ 对照 100LD ₅₀ control	0	14/14	100.0		4.24 ± 3.07
正常饲养对照 Normal control	0	0/14	0.0		10.0
最大治疗剂量药物对照 The curative maximum dose of A ₆ control	5000	0/14	0.0		10.0

连续给药 5 d, 其 A6 部份可明显延长 100LD₅₀ 感染幼鼠的平均生存天数, 降低死亡率, 与感染后不治疗组比较, 经 X² 检验, P<0.001~0.05, 有明显的预防治疗作用。

2 A6 对 FM₁ 感染成年鼠的防治效果

A6 对 100ID₅₀FM₁ 感染成年鼠的防治效果见表 2。当黄芪按生药量计算, 其 A6 剂量为 1250~5000 mg/kg, 连续给药 5 d, 可明显减轻被感染成年鼠肺脏的充血水肿程度, 使其肺湿重值明显下降。经 t 检验, P<0.001~0.05, 与感染后不治疗组相比, 有显著性差异。

表 2 A6 对 FM₁ 感染成年鼠的防治作用

Table 2 The preventive and curative effects of A6 on the mature mice infected with influenza virus FM₁ strain

处 置 Treatment	药物剂量 Drug doses (mg/kg·d×5)	肺湿重(g) The lung humid weight (g) (\bar{X} +SD)	t 检验 t test (p)
预 防 Prevention	5000	0.31±0.11	<0.001
	2500	0.47±0.24	<0.001
	1250	0.66±0.20	<0.05
	625	0.85±0.19	>0.05
早期治疗 Early treatment	5000	0.35±0.12	<0.001
	2500	0.48±0.15	<0.001
	1250	0.72±0.15	<0.05
	625	0.84±0.24	>0.05
治 疗 Cure	5000	0.53±0.17	<0.001
	2500	0.55±0.22	<0.001
	1250	0.76±0.27	<0.05
	625	0.92±0.22	>0.05
100 ID ₅₀ 对照 100 ID ₅₀ control	0	0.98±0.11	
正常饲养对照 Normal control	0	0.29±0.06	
最大治疗剂量药物对照 The curative maximum dose of A6 control	5000	0.28±0.11	

本室的研究表明, A6 对流感病毒包膜功能和影响病毒对敏感细胞的吸附和穿入有较明显作用(全文另发)。由于不同年龄阶段的 BALB/C 小鼠受流感病毒感染后, 其病情程度不一。幼年鼠病情较重, 常于被感染后 2~3 d 发病, 10 d 内死亡率可达 100%; 而成年鼠被感染后多有萎靡不振、体重下降、活动减少等, 解剖后可见病鼠肺脏充血水肿。故我们选择幼鼠和成年鼠, 用 100 LD₅₀ 或 100 ID₅₀ 流感病毒感染后, 用不同指标观察 A6 对其的预防、治疗效果, 以求结果客观、准确。本研究表明, A6 对 100 LD₅₀ 或 100 ID₅₀ FM₁ 感染的幼鼠或成年鼠都有明显的预防、早期治疗及治疗作用。而且预防效果优于治疗; 感染后立即给药疗效优于感染后 24 h 给药, 提示给药越早, 疗效越好。通过以上实验, 为临床应用黄芪 A6 组分防治流感提供了充分的药效资料。

参 考 文 献

- 1 陈丽娟. 黄芪对小鼠吞噬功能的影响. 中国药理学报, 1981, 2(3): 200~203
- 2 董杰德, 夏洪印, 于修平等. 中草药和铬对心肌细胞生长代谢及其抗病毒的实验研究. 中国病毒学, 1995, 10(2): 104~109
- 3 左丽, 董熙昌, 孙晓娟. 黄芪 A₆ 组分与无环鸟苷联合对 I 型单纯疱疹病毒感染小鼠的治疗作用. 中国病毒学, 1995, 10(2): 177~179
- 4 侯云德, 宋代军, 傅丰家等. 黄芪某些生物学活性的有效部分的研究. 中西医结合杂志, 1998, 4(7): 420~4424

The Preventive and Curative Effects of *Astragalus membranaceus* Bungo A₆ on the Mice Infected with Influenza Virus

Zuo Li Chen Li Tang Xiaomin *et al*

(Department of Immunology, Guiyang Medical College, Guiyang 550004)

The preventive and curative effects of *Astragalus membranaceus* Bungo A₆ on the mice infected with influenza virus FM₁ strain were studied. The results showed that the gruffs concentration of *Astragalus membranaceus* Bungo was the range of 1250~5000 mg/kg·d×5. The preventive and curative effects of the A₆ constituent on the BALB/C mice infected with 100 LD₅₀ or 100 ID₅₀ FM₁ were very obvious. The mortality and the mean survival days of the infected infantile mice were reduced and prolonged. The lung humid weight of the infected mature mice were lightened (P<0.001~0.05). In addition, the preventive effects were better than the curative effects. The earlier the drug was given, the better the curative effects were showed.

key words *Astragalus membranaceus*, Influenza virus, Mice, Drug effective section