

黄芪水煎液抗 型单纯疱疹病毒的实验研究

孙 艳 袁 洁 解放军总医院药材处 北京 100853 宛

摘要 目的 研究黄芪抗 型单纯疱疹病毒 HSV-1 的作用 方法 在人胚肺二倍体细胞系统中 采用对病毒所致细胞病变的抑制实验 观察黄芪水煎液抗 HSV-1 的药效 结果 黄芪水煎液的半数抑制浓度为 0.98 滋/ml 最小有效浓度为 1.95 滋/ml 治疗指数为 128 结论 黄芪有较显著的抗 HSV-1 作用 且对细胞毒性低

关键词 单纯疱疹病毒 型 HSV-1 黄芪 体外抑制 细胞病变效应

中图分类号 752 文献标识码 文章编号 000-2588 004 1-0057-02

Experimental study of the effect of Astragalus membranaceus against herpes simplex virus type 1

SUN Yan, YANG Jie

Department of Pharmaceutics, General Hospital of PLA, Beijing 100853, China

Abstract: Objective To study the inhibitory effects of Astragalus membranaceus on herpes simplex virus type 1 (HSV-1). Methods In the 2BS cells infected with HSV-1, the antiviral effect of Astragalus membranaceus decoction was investigated by observing the inhibition of HSV-1-induced cytopathic effect in response to treatment with the decoction. Results The half inhibition concentration (IC₅₀) and minimal inhibition concentration (MIC) of Astragalus membranaceus were 0.98 and 1.95 滋/ml respectively, with the therapeutic index (TI) of 128. Conclusion Astragalus membranaceus has obvious HSV-1-inhibiting efficacy and low cytotoxicity.

Key words: herpes simplex virus, type 1; Astragalus membranaceus; in vitro inhibition; cytopathic effect

型人类单纯疱疹病毒 HSV-1 可引起唇疱疹 疱疹性角膜结膜炎 新生儿脑炎等多种疾病 虽然研制疫苗可预防 HSV 感染 但因 HSV 基因组是双链 DNA 易于与宿主细胞 DNA 发生整合或形成潜伏感染 从而限制了疫苗的发展及应用 临床应用的抗病毒药物毒性大 加之毒株的变异容易产生耐药性 筛选研制新的抗病毒药物就尤为重要 黄芪来源于豆科植物膜荚黄芪干燥根 具有广谱的抗病毒作用 有报道黄芪水煎液对 VSV 痘病毒 流感病毒等有一定的抑制作用 黄芪的主要化学成分是黄芪皂苷 多糖 黄酮 多种微量元素 甾体酸 亚麻酸等 为了顺应中药现代化的发展趋势 开发利用黄芪的抗病毒活性 我们以 HSV-1 感染的人胚肺二倍体细胞 2BS 作为实验系统对黄芪水煎液抗 HSV-1 活性进行了观察

1 材料与方法

1.1 材料

所用中药黄芪由解放军总医院中药房提供 取其 10 g 加水 50 ml 加热回流 1 h 通过滤合并滤液 浓缩再过滤 再浓缩至 1 ml 含生药 1g 所用阳性对照药

无环鸟苷为白色粉剂 由重庆普惠有限公司提供 编号 020302 单纯疱疹病毒 型 M44 株 批号 2002121 2BS 的 10~13 代细胞均由中国预防医学科学院病毒所提供

1.2 方法

1.2.1 黄芪水煎液对 2BS 细胞的毒性测定 采用细胞形态变化(CPE)法 2BS 细胞以 40 万 /ml 浓度接种于 96 孔培养板 0 滋 / 孔 7 滋 % CO₂ 培养 24 h 加入验证药物和阳性对照药物 浓度接种 4 孔 每孔 100 滋 黄芪水煎液倍比稀释 6 个浓度 分别为 500 滋 250 滋 125 滋 62.5 滋 31.25 滋 15.625 滋/ml 阳性对照药物无环鸟苷倍比稀释 6 个浓度 分别为 2 000 滋 1 000 滋 500 滋 250 滋 125 滋/ml 设正常细胞组作为对照 同时置 37 益 % CO₂ 培养 5~7 d 每 24 h 在倒置显微镜下观察细胞形态变化 记录细胞破坏情况 以 25% 以下破坏为 26% ~50% 破坏为 1% ~75% 为 6% ~100% 为 用 Reed-Muench 法计算半数中毒浓度 D₅₀

1.2.2 在 2BS 细胞培养内测定 HSV-1 病毒半数感染浓度 CID₅₀ 采用病毒 CPE 法 2BS 细胞以 40 万 /ml 浓度 100 滋 接种于 96 孔培养板 7 益 培养 24 h 分别加入 HSV-1 病毒 0 倍稀释 8 个浓度 每浓度 4 孔 每孔 100 滋 设正常细胞组作为对照 7 益 培养 5~7 d 观察细胞形态变化 记录实验结果 计算 HSV-

收稿日期 003-09-22

作者简介 孙 艳 963- 宛 第一军医大学毕业 本科 主管药师 电话 10-66939446

玉的 TCID₅₀ 遥

1.2.3 黄芪水煎液在细胞培养内对 HSV-玉病毒的抑制作用 采用病毒 CPE 法进行遥 2BS 细胞以 40 万/ml 浓度接种于 96 孔培养板袁 7 益培养 24 h 遥分别加入 HSV-玉病毒的 10~100 TCID₅₀ 的病毒液袁每孔 100 滋袁 7 益吸附 1 h 袁弃掉病毒液遥加入黄芪水煎液袁选用毒性实验结果的最大无毒浓度 渊TD₀) 遥药液 250.0~0.5 滋/ml 袁二倍稀释 8 个浓度袁每浓度 4 孔袁每孔 100 滋遥无环鸟苷为 1 000.0~0.5 滋/ml 二倍稀释 8 个浓度袁每浓度 4 孔袁每孔 100 滋遥同时设病毒对照和正常细胞对照袁 7 益尧% CO₂ 培养 5~7 d 遥每 24 h 倒置显微镜下观察病毒 CPE 袁至病毒对照细胞病变出现野++~++++ 渊时结束实验遥实验重复 3 次袁计算药物半数有效浓度 渊IC₅₀) 尧最小有效浓度 渊MIC) 尧并根据公式 TI= TD₀/MIC 计算治疗指数 TI^{〔7〕}遥

2 结果

2.1 预备实验结果

黄芪水煎液对细胞的毒性作用袁新测黄芪水煎液的 TD₀ 为 250 滋/ml 袁D₅₀ 为 300 滋/ml 遥无环鸟苷的 TD₀ 为 1 000 滋/ml 袁D₅₀ 为 1 250 滋/ml 渊均为 3 次实验结果的均值) 遥在 2BS 细胞培养内测定 HSV-玉的 TCID₅₀ 为 1伊0⁻⁷ 遥

2.2 正式实验结果

黄芪水煎液的 IC₅₀ 为 0.98 滋/ml 袁MIC 为 1.95 滋/ml 袁I 为 128 遥无环鸟苷的 IC₅₀ 为 2.5 滋/ml 袁MIC 为 5.0 滋/ml 袁I 为 200 渊均为 3 批实验结果) 遥

3 讨论

对于药物的评价需要考虑其药效与毒力的相对关系袁这个相对关系可用 TI 表示遥从本研究的结果来看袁黄芪的 TI 为 128 袁表现出较强的直接杀灭尧阻断

感染尧抑制 HSV-玉增殖的作用遥

近年来袁中草药的抗病毒作用有大量的报道遥〔7〕遥经文献调研袁发现有 100 多种中药具有抗病毒作用遥本实验也验证的黄芪的抗病毒作用袁为临床用药提供了依据遥

参考文献院

咱暂侯云德, 宋代军, 傅丰永. 黄芪某些生物学活性的有效部分的研究 咱暂中西医结合杂志, 1984, 4(7): 420-1.
 Hou YD, Song DJ, Fu FY. Investigation of biological active parts from Astragalus membranaceus 咱暂Chin J Integ Trad Western, 1984, 4(7): 420-1.
 咱暂尤丽芬. 黄芪的免疫及抗病毒作用 咱暂中草药, 1993, 24(4): 211-2.
 You LF. Action of immune and anti-virus of Astragalus membranaceus 咱暂Chin Trad Herbal Drugs, 1993, 24(4): 211-2.
 咱暂上海第一医学院卫生统计学教研组. 医学统计方法 咱暂上海科学技术出版社, 1979. 209.
 咱暂王 鹏, 解砚英, 王元书, 等. 中药大黄抗病毒作用的实验研究 咱暂山东医科大学学报, 1996, 34(2): 166-7.
 Wang P, Xie YY, Wang YS, et al. Study on antiviral of Rheum of 鄆ficinale Baill 咱暂ACTA Acad Med Shandong, 1996, 34(2): 166-7.
 咱暂杨怡妹, 李洪源, 刘密凤, 等. 抗病毒中药 1 号在 MDCK 细胞中对流感病毒 B 的抑制作用 咱暂黑龙江医学, 2001, 25(1): 16-7.
 Yang YS, Li HY, Liu MF, et al. Anti-influenza effect of a Chinese medicinal herb No.1 in MDCK culture 咱暂 Heilongjiang Med J, 2001, 25(1): 16-7.
 咱暂张美方, 董 岩. 金银花黄芪溶液抑制水痘带状疱疹病毒作用的实验研究 咱暂齐鲁医学杂志(Med J Qilu), 2003, 18(2): 156-7.
 咱暂游文玮, 吴昭晖, 佟 丽, 等. 喂饲补阳还五汤大鼠血清中黄芪甲甙的固相萃取 - 化学衍生化 - 荧光分光光度法测定 咱暂第一军医大学学报, 2003, 23(4): 335-6.
 You WW, Wu ZH, Tong L, et al. Determination of serum astragaloside in rats fed with Buyanghuanwu decoction using solid-phase extraction, chemical derivatization and fluorospectrophotometry 咱暂J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2003, 23 (4): 335-6.

芥子气烧伤的救治

皮肤染毒时袁用纱布或纸沾去皮肤上的毒剂袁注意不可擦拭导致毒剂扩散到正常皮肤袁然后用大量清水冲洗遥水疱液先用注射器空针抽吸干净后袁再将疱皮尧痂皮剪去遥然后创面用高锰酸钾液尧过氧化氢液冲洗袁减轻芥子气毒剂浸润遥

创面采用烧伤湿润暴露疗法袁用油纱敷料包扎治疗中袁应增加换药次数遥通过局部换药及时清除残留芥子气的污染袁减少毒剂吸收袁减轻对创面的损伤遥有报告先用有机溶剂如汽油尧乙醇尧丙酮尧烯等洗涤袁再用棉球擦干袁效果较好遥

眼污染可用 2% 碳酸氢钠或大量等渗液尧清水冲洗遥局部用 0.5% 氯霉素或 0.1% 新霉素滴眼袁或涂 1% 丁卡因眼膏以止痛遥

大面积芥子气烧伤的补液治疗同一般烧伤遥芥子气中毒者袁静脉注射 25% 硫代硫酸钠 50 ml 袁注射速度每分钟 5 ml 每隔 2 h 重复半量袁连续 3 次袁并予镇静尧吸氧遥芥子气吸入损伤同一般吸入损伤治疗原则治疗处理遥