

满山香水煎液对流行性感胃病毒的抑制效果观察

郑云凯* 江紫生** 邹莉玲***

(江西省防治慢性气管炎病毒组, 南昌)

一、满山香水煎液75%浓度,在鸡胚内对流感病毒亚洲甲型赣防71-5株、京科68-1株(60EID₅₀感染量)均有较明显的抑制作用。

二、“毒-药”或“药-毒”,虽感染和注药先后不同(相隔60分钟),其抑制效果无显著差异。

三、鸡胚尿囊腔感染病毒,60分钟后,经卵黄囊注药,对流感病毒赣防71-5株,京科68-1株也均有抑制作用。

四、阴性尿液经鸡胚尿囊腔盲传两代后,除个别血凝转阳外,大部分仍为阴性,药液在鸡胚内的抑毒作用比较显著。

流行性感胃(下简称流感)是病毒性急性上呼吸道传染病,也是引起慢性气管炎急性发作、复发和加重的因素之一。同时考虑到流感自然变异的特点,探索有效的非特异性防治方法是十分需要的。

数年来筛选对流感病毒具有抑制作用的中草药,许多人用单层细胞、动物、鸡胚体外或体内等方法进行了大量实验,多数体外效果显著,体内效果则有差别^[1-3]。为了寻求在体内对流感病毒具有抑制和灭活作用的中草药,本实验选用江西乐安县民间防治流感效果较好的中草药满山香(*Lysimachia* sp.)水煎液,在鸡胚内对流感病毒亚洲甲型不同毒株进行了抑制效果观察,并用此药对114例流感患者进行了临床疗效观察,依据治愈标准,有效率达81.6%,同时也取服药前后之同一患者咽部含漱液进行病毒分离,分离率十分明显地下降。现将药液在鸡胚内抑毒实验之初步结果报告如下。

材料与方法

一、材料

(一) 满山香水煎液 取满山香根及根上(13厘米)之茎,加水煮沸后持续60—180分钟,浓缩成100%(1毫升含生药1克),普通滤纸过滤,滤液隔水加温煮沸消毒灭菌后,置4℃保存备用。

(二) 流感病毒 赣防71-5株,系1971年11月在南昌市分离得亚洲甲型毒株,鸡胚病毒滴度(EID₅₀下同)10^{7.25}、10^{6.5}。

京科68-1株,鸡胚病毒滴度10^{7.0}、10^{6.5}。

(三) 鸡胚 南昌市朝阳鸡场、塘山鸡场,孵育10日龄胚。

(四) 鸡血球 用0.9%生理盐水洗涤三次,配成1%血球悬液。

二、方法

(一) 满山香水煎液对鸡胚的毒性测定 以满山香水煎液100%、75%、50%、25%之不同浓度分别注入鸡胚尿囊腔0.1毫升或卵黄囊0.2毫升,预备试验测出此药液对鸡胚的最大安全浓

* 江西省第二人民医院

** 江西省医学科学研究所

*** 南昌市第二人民医院

本文1973年4月9日收到。

度和药量,75%水煎液在尿囊腔为0.1毫升,卵黄囊0.2毫升。

(二) 病毒鸡胚半数感染量(EID₅₀)测定 取低温保存之尿囊液,以生理盐水10倍递增稀释,每稀释度接种10日龄鸡胚4只,每胚(尿囊腔)接种0.1毫升,35℃培育48小时后,置4℃16小时取尿囊液做直接血凝试验,用里德-明奇(Reed和Muench)法计算EID₅₀。

(三) 药液在鸡胚内抑制病毒的实验方法

1. 先病毒后药液(以“毒-药”代之)组:将0.1毫升(含60EID₅₀)病毒悬液注入尿囊腔,35℃培育60分钟,再注入75%浓度之药液0.1毫升,或注入卵黄囊0.2毫升,35℃培育48小时,置4℃16小时,取尿囊液做血凝试验。选阴性尿囊液再接种尿囊腔进行传代,取尿囊液观察血凝结果。

2. 先药液后病毒(以“药-毒”代之)组:尿囊腔注药0.1毫升或卵黄囊注药0.2毫升后,置35℃培育60分钟,然后接种病毒0.1毫升,其它条件与方法同1组。

3. 病毒与药液在试管内等量混合(以“毒+”

药”代之)组:将病毒与药液等量混合后,于4℃作用60分钟,接种尿囊腔,每胚接种0.2毫升,其它条件与方法同1组。

4. 病毒对照组:只接种病毒,其条件与方法同1组。

5. 药液对照组:只接种药液,其条件与方法同2组。

6. 正常对照组:同实验组之正常鸡胚,观察生存情况。

实验结果

一、满山香水煎液对流感病毒的抑制效果

流感病毒赣防71-5株、京科68-1株(60EID₅₀)接种鸡胚尿囊腔0.1毫升,35℃培育60分钟后,再按相同途径注入药液,或先注入药液后接种病毒,经48小时培育后,均可见血凝试验阳性率下降,病毒与药液体外接触后,其血凝结果均为阴性(表1)。

如表1所示,满山香水煎液75%浓度

表1 满山香水煎液对流感病毒赣防71-5株、京科68-1株在鸡胚内的抑制作用

实验批数	药液浓度	病毒株	病毒量 (EID ₅₀)	实 验 组			对 照 组		
				毒-药	药-毒	毒+药(外)	毒	药	正常
1	50%	71-5	30	3/4	1/3	0/4	3/3	活 ₁	活 ₂
			60	2/3	3/4	0/4			
2	50%	71-5	15	0/2	0/4	0/4	3/3	活 ₁	活 ₂
			30	1/4	2/4	0/4			
			60	3/4	2/4	0/4			
	75%	71-5	15	0/4					
			30	0/4					
			60	1/4					
3	75%	71-5	30	0/4	0/4	0/2	3/3	活 ₃	活 ₂
			60	1/4	0/4				
			100	4/4	2/2				
		68-1	60	1/3		0/4			
4	75%	71-5	60	0/3	1/3		3/3	活 ₁	活 ₂
		68-1	60	0/4	0/3		3/3		

注: 1. 实验组每组接种鸡胚4只,病毒和药物对照组均接种鸡胚3只,正常对照组2只。
 2. 表内分子代表血凝定性阳性胚数,分母代表接种数。分母小于4和小于3之差数为48小时内鸡胚因非特异性之死亡数,本表统计数内已减掉。药物对照组表示存活数,24小时内死亡数已减掉。
 3. 正常组,表示鸡胚存活数。

在“毒-药”、“药-毒”两组中,对流感病毒赣防 71-5 株、京科 68-1 株均有一定的抑制作用。50% 药液浓度对 60EID₅₀ 感染量之病毒的抑制效果,则较 75% 浓度为低。50%、75% 不同浓度药液对不同感染量之病毒体外接触后,其抑制效果均十分显著。

二、满山香水煎液在鸡胚内不同注药途径的抑制病毒效果

表 2 鸡胚内不同途径注药对流感病毒的抑制效果

病毒株	病毒量 (EID ₅₀)	感染途径	药液浓度	实验批数	注 药 途 径						对 照	
					尿 囊 腔		卵 黄 囊		尿 囊 腔 (二)		毒	药
					毒-药	药-毒	毒-药	药-毒	毒-药	药-毒		
赣防 71-5	60	尿囊腔	75%	1	2/4	1/4	1/4	0/3	1/4	1/4	2/2	活。
				2			0/4				2/2	活。
				3	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4	1/4	3/3	活。

注: 1. 尿囊腔(二)为感染后 60 分钟注药一次, 35℃ 培养 24 小时后再注药一次。

2. 同表 1 注 2。

3. 活: ——表示存活胚数。

药后,对流感病毒赣防 71-5 株的抑制作用与尿囊腔注药基本相同,先感染病毒后注药或先注药后感染病毒,其结果亦无显著差异,因而进一步证明,药液在鸡胚内抑制病毒的作用是肯定的。被感染鸡胚第一次注药后,经 35℃ 培育 24 小时,再第二次注药,未显示出重复加药后增强对病毒的抑制效果。

三、阴性尿囊液盲传两代时用血凝试验观察病毒的繁殖情况

为了进一步了解上述实验中药物明显抑制病毒繁殖的机制,我们把上述实验中结果为阴性的每只鸡胚尿囊液,分别进行盲传,盲传第一代之尿囊液血凝定性转阳者则终止;仍为阴性者继续传代,并用血凝试验观察有无病毒繁殖(表 3)。

从表 3 的实验结果看出,取各组血凝定性阴性之尿囊液,再经鸡胚尿囊腔盲传两代后,其血凝结果大部仍为阴性,药液在

75% 浓度的满山香水煎液 0.1 毫升注入鸡胚尿囊腔,对流感病毒亚洲甲型不同毒株 (60EID₅₀) 具有较明显的抑制作用,为了解改变注药途径后的抑毒效果,分别采用尿囊腔感染,卵黄囊或尿囊腔注药两方法对比,观察药液在鸡胚内对流感病毒的抑制情况。

如表 2 所示,受感染鸡胚经卵黄囊注

鸡胚内的抑制病毒效果似较稳定。个别阴性尿囊液经盲传二代后血凝结果转阳,似说明在上述实验条件下仍有少量病毒未被抑制。

讨 论

从不同浓度之满山香水煎液在鸡胚内对流感病毒的抑制效果的各实验中,可观察到药液抑制病毒的效果与病毒感染量的相互关系。50% 药液浓度对 30EID₅₀ 感染量之病毒有一定的抑制效果,而对 60EID₅₀ 感染量之病毒,其抑制作用则不及 75% 药液浓度的效果显著;75% 药液浓度对 100 EID₅₀ 感染量之病毒似无抑制作用。故在鸡胚对药液之最大耐受量范围内,抑毒效果之明显与否和药液浓度之高低与病毒感染量之大小适成反比。虽感染和注药先后(毒-药或药-毒)不同(相隔 60 分钟),而抑毒效果则未见明显差异。由实验证明药液

表3 阴性尿囊液盲传试验结果

病毒株	感染量 (EID ₅₀)	药液浓度	注药途径	实验组	实验胚号 (HA)*	盲传一代胚号 (HA)	盲传二代胚号 (HA)	对 照				
								毒	药			
赣 防 71-5			卵黄囊	毒-药	1(-)	1-1(++++)		++++ ₂	活 ₂			
					2(-)	1-2(++++)	2-1-1(-)					
					3(-)	2-1(-)	2-1-2(-)					
					4(-)	2-2(-)	2-2-1(-)					
京 科 68-1	60	75%	尿囊腔	毒-药	1(-)	2-1(-)	2-1-1(-)	++++ ₂	活 ₂			
					2(-)	2-2(-)						
					3(-)	4-1(-)	4-1-1(-)					
					4(-)	4-2(-)	4-1-2(-)					
			卵黄囊	毒-药	1(-)	2-1(-)	2-1-1(-)	++++ ₂	活 ₂			
					2(-)	2-2(-)	2-1-2(-)					
					3(-)	3-1(-)	3-1-1(-)					
					4(-)	3-2(-)	3-1-2(-)					
			赣 防 71-5			尿囊腔	毒-药	1(-)	1-1(-)	1-1-1(-)	++++ ₂	活 ₂
								2(-)	1-2(-)	1-1-2(-)		
								3(-)	2-1(-)	2-1-1(-)		
								4(-)	2-2(-)	2-1-2(-)		
药-毒	毒-药	1(-)				1-1(-)	1-2-1(-)	++++ ₂	活 ₂			
		2(-)				1-2(-)	1-2-2(-)					
		3(-)				2-1(-)	2-1-1(-)					
		4(-)				2-2(-)	2-1-2(-)					
卵黄囊	毒-药	1(-)	1-1(-)	2-1-1(-)	++++ ₂	活 ₂						
		2(-)	1-2(++++)	2-1-2(-)								
		3(-)	2-1(-)	2-1-2(-)								
		4(-)	2-2(-)	3-2-1(-)								
	药-毒	毒-药	1(-)	3-1(-)	3-2-2(-)	++++ ₂	活 ₂					
			2(-)	3-2(-)								
			3(-)	4-1(++++)								
			4(-)	4-2(++++)								
卵黄囊	毒-药	1(-)	1-1(-)	1-2-1(++++)	++++ ₂	活 ₂						
		2(-)	1-2(-)	1-2-2(++++)								
		3(-)	2-1(++++)									
		4(-)	2-2(++++)									
	药-毒	毒-药	1(-)	3-1(-)	3-2-1(-)	++++ ₂	活 ₂					
			2(-)	3-2(-)	3-2-2(-)							
			3(-)	4-1(++++)								
			4(-)	4-2(++++)								

* 血凝试验。

对照组: ++++₂ 代表阳性胚数, 活₂代表存活

对鸡胚内病毒的抑制作用,在病毒感染 60 分钟后给药仍然十分明显,从而初步认为,药液的作用不是阻止病毒对细胞的吸附,很可能是药液的有效成份作用于病毒复制过程初期的某一环节。病毒开始繁殖之后给药,不发生抑制病毒作用;重复给药不增加抑制效果的实验结果,也正好说明了这点。卵黄囊给药同样发生抑制效果,这排除了粗制药物直接灭活病毒的常见现象。关于满山香抑制流感病毒的有效成份及更进一步的作用机制,有待于进一步的研究探讨。

参 考 资 料

- [1] Дрейзин, Р. С., и др.: *Вопр. патоген. и иммунол. вир. инфек.* С. 398, 1955.
 [2] Короткова, В. П.: *Вопр. патоген. и иммунол. вир. инфек.* С. 436, 1955.
 [3] 朱锡华等: *微生物学报*, **6**:211, 1958.
 [4] 王善源: *科学通报*, **3**:90, 1958.
 [5] 王守良等: *中华医学杂志*, **44**:275, 1958.
 [6] 湖北防疫站微生物检验室: *中华医学杂志*, **9**:888, 1958.
 [7] 刘国声等: *微生物学报*, **8**:164, 1960.
 [8] 任贵方: *中华医学杂志*, **46**:485, 1960.
 [9] 中医研究院中药研究所病毒组: *新医药学杂志*, **1**:26, 1973.

THE INHIBITORY EFFECT OF DECOCTION OF *LYSIMACHIA* SP. ON INFLUENZA VIRUS

CHENG YUN-KAI

(*Second People's Hospital of Kiangsi*)

KIANG TSE-SEN

(*Institute of Medical Science of Kiangsi*)

TSOW LI-LING

(*Second People's Hospital of Nanchang*)

(*Kiangsi Virological Co-ordinating Group for the Prevention and Therapy of Chronic Bronchitis, Nanchang*)

1. The inhibitory effect of decoction of *Lysimachia* sp. on two strains of Type A₂ influenza virus was observed in chicken embryo. The result showed distinct inhibitory effect on both strains in 75% dilution of the drug and the infective dose of the virus being 60EId₅₀.

2. The inhibitory effect in "Virus-Drug" and "Drug-Virus" groups showed no significant difference as to whether the virus suspension or the drug was given first.

3. When the drug decoction was

injected into yolk sac, sixty minutes after injection of virus into allantoic sac, persistence of the inhibitory effect on both strains of influenza virus was observed.

4. After two generations of back-injection with the negative allantoic fluid into the allantoic sac, the majority of the tests showed negative hemagglutination reaction; this meant that the inhibitory action of the drug against the virus in chicken embryo was quite stable.