

丝瓜提取物的抗乙型脑炎病毒感染作用

许兆祥 李蕾琴 周肇庆 曲凤珍 童玲莉

(中国预防医学中心病毒学研究所, 北京)

本文报道以乙型脑炎病毒皮下感染小白鼠为实验模型, 观察丝瓜提取物 (L 043) 的抗感染作用。在感染病毒前腹腔注射 L 043 时, 有很明显的预防作用, 其保护率为 60—80%; 在感染病毒 3.5 小时后注射 L 043 时, 其保护率 (20—27%) 较低。实验证明 L 043 对乙型脑炎病毒无直接灭活作用; 对组织培养细胞、小白鼠、家兔, 未见有明显的毒性。

关键词 丝瓜提取物 (L 043); 抗病毒作用; 乙型脑炎病毒

我们曾报道丝瓜芽提取物 (L 042) 具有明显的抗乙型脑炎病毒 (以下简称“乙脑病毒”) 感染作用^[1]。本实验证明丝瓜提取物 (L 043) 也有明显的抗乙脑病毒感染作用。

乙型脑炎是由携带该病毒的蚊子叮咬感染机体的, 为了证明 L 043 对接近于乙脑病毒自然感染途径的保护作用, 本实验着重以乙脑病毒皮下感染小白鼠, 观察 L 043 的抗感染作用。此外, 对 L 043 性质进行了初步探讨。

材料和方法

(一) L 043 的制备

以鲜嫩的丝瓜 (*Luffa cylindrica* (L) Roem) 切成小块, 加 STE (0.1M NaCl-0.03M Tris-0.001M EDTA pH7.2) 缓冲液, 用捣碎器捣碎, 然后按文献[1]提取。

(二) L 043 抗乙脑病毒感染试验

实验用刚断奶的 8—9g 小白鼠 (昆明种)。在不同实验中, 感染病毒前或后, 每只鼠腹腔注射 L 043 0.2ml (含 200μg L 043, 以 STE 稀释), 皮下接种乙型脑炎病毒 (京卫研株^[2] 38—42 代), 接种病毒量一般可使对照组小白鼠死亡 80—100%, 实验动物观察 20 天。

结 果

(一) L 043 对乙脑病毒皮下感染小白鼠的保护作用

1. L 043 对小白鼠感染乙脑病毒的预防作用: 实验鼠皮下感染乙脑病毒前 18、12、4 小时注射 L 043, 对照组注射 STE。结果 L 043 组的保护率 (实验组存活率减对照组存活率) 为 65—80% (表 1)。

表 1 L 043 对小白鼠乙脑病毒皮下感染的预防作用

Table 1 Prophylactic effect of L 043 on mice challenged with JEV subcutaneously

实验号 Exp. No.	存活率 (%) Survivor rate		保护率 (%) Protection rate
	实验组 Exp. group	对照组 Control	
1	80(16/20)	0(0/20)	80
2	65(13/20)	0(0/20)	65
3	85(17/20)	5(1/20)	80
4	68(13/19)	0(0/20)	68
5	74(14/19)	0(0/19)	74

2. 小白鼠感染乙脑病毒后用药的保护作用: 小白鼠皮下感染乙脑病毒 3.5 小时后, 8 次注射 L 043 (感染后 3.5、12 和 20 小时, 其后每隔 12 小时再注射 5 次)。结

本文于 1984 年 5 月 24 日收到。

果其保护率为 20—27%, 说明感染病毒后用药, 其保护率较低 (表 2)。

表 2 L 043 对小白鼠皮下感染乙脑病毒后的保护作用

Table 2 Protection effect of L 043 on mice after subcutaneous infection with JEV

实验号 Exp. No.	存活率(%) Survivor rate		保护率(%) Protection rate
	实验组 Exp. group	对照组 Control	
1	45(9/20)	20(4/20)	25
2	47(9/19)	20(4/20)	27
3	20(4/20)	0(0/20)	20

(二) L 043 对乙脑病毒的直接作用

试验

实验组以 $0.5\text{ml } 2 \times 10^{-4}$ 乙脑病毒悬液加等体积 L 043 ($200\mu\text{g/ml}$), 对照组加等体积 STE, 置室温 2 或 3 小时, 10 倍系列稀释后进行小白鼠脑内滴定。结果实验组 LD_{50} 略高于对照组, 说明 L 043 对乙脑病毒无直接灭活作用, 可能对病毒还有些保护作用 (表 3) (注: 表 3 中分母为总鼠数, 分子为死亡数)。

(三) L 043 的毒性试验

1. 对兔肾细胞的毒性: 以含 L 043 $100\mu\text{g/ml}$ 的 Eagle's 液接种兔肾原代组织培养细胞, 未见对细胞有毒性。

2. 对小白鼠的毒性: 小白鼠 5 只, 腹

腔注射 L 043 $200\mu\text{g/鼠/次}$, 共注射 8 次 (注射间隔同实验 (一) 2), 结果小白鼠全部存活。

3. 对家兔的毒性: 家兔耳静脉注射 L 043 6mg/kg 体重, 其体温未见升高。

(四) L 043 性质的初步探讨

L 043 经分光光度计测定, 证明其紫外吸收曲线与核酸相似 (图 1)。L 043 经 RNase ($4\mu\text{g/ml}$ 36°C 30 分钟) 处理后, 其保护率明显降低, 由 74% 降至 47%; L 043 经 100°C 处理后, 其抗病毒感染作用基本消失 (表 4)。

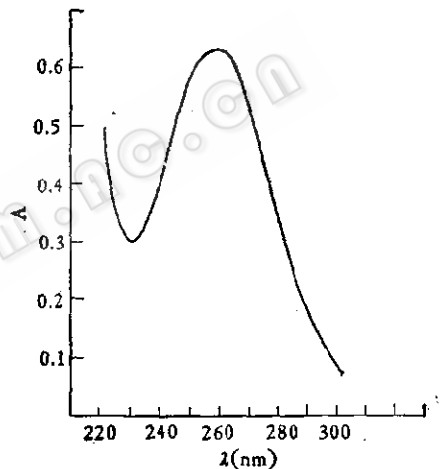


图 1 L 043 的紫外吸收曲线

Fig. 1 UV spectrum curve of L 043

表 3 L 043 对乙脑病毒的直接作用试验

Table 3 Test of direct action of L 043 on JEV

实验号 Exp. No.	组别 Groups	作用时间 (hr) Duration of reaction	稀释度 Dilution				MLD ₅₀ (-lg)
			10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	
1	实验组 Exp. group	2	5/5	5/5	5/5	2/5	7.83
	对照组 Control	2	5/5	5/5	5/5	1/5	7.62
2	实验组 Exp. group	3	5/5	5/5	5/5	3/5	8.17
	对照组 Control	3	5/5	5/5	5/5	0/5	7.5

表 4 某些因子对 L 043 抗乙脑病毒感染作用的影响

Table 4 Influence of some factors on the antiviral infection of L 043

处理 Treatment	存活率(%) Survivor rate	保护率(%) Protection rate
L 043	74(14/19)	74
L043 + RNase	47(9/19)	47
L043 100°C 1h	5(1/19)	5
对照组 Control	0(0/19)	0

讨 论

祖国医学《学圃杂疏》记载,丝瓜蒂能治“小儿痘”^[3],从现代医学观点看来,“小儿痘”似应称水痘,是常见小儿的一种病毒性疾病。本实验以乙脑病毒皮下感染小白鼠为实验模型,证明了丝瓜提取物(L 043)有较明显的抗病毒感染作用。现已初步证明 L 043 是一种干扰素诱生剂。干扰素诱生剂具有广谱抗病毒感染作用,所以, L 043

很可能对水痘等其它病毒性感染也有效。

实验证明 L 043 的紫外光谱吸收曲线与核酸的相似; RNase 处理 L 043 后能明显降低其抗病毒感染作用,但仍有部分保留。一般认为双链 RNA 能诱生干扰素,双链 RNA 对 RNase 有一定的耐受性,所以 L 043 中的有效成分可能是双链 RNA,但尚需作进一步鉴定。

中医用丝瓜植物的不同部位入药,如丝瓜叶、丝瓜花用于清热解毒,丝瓜藤用于治疗慢性气管炎等^[3]。丝瓜植物的这些部位或其它部位的组织也可能含有抗病毒感染有效成份,值得进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 许兆祥等:中国医学科学院学报,6(1): 12, 1984。
- [2] 黄祯祥等:微生物学报,6(1): 32, 1958。
- [3] 江苏新医学院编:《中药大辞典》,上海人民出版社,793—795 页,1977。

ANTIVIRAL EFFECT OF EXTRACT OF *LUFFA CYLINDRICA* (L 043) ON JAPANESE B ENCEPHALITIS VIRUS INFECTION IN VIVO

Xu Zhaoxiang Li Leiqin

Zhou Zhaoqing Qu Fengzhen Tong Lingli

(Institute of Virology, China National Centre for Preventive Medicine, Beijing)

The extract of *L. cylindrica* (L 043) was found to be an antiviral agent in vivo by the authors.

A significant prophylactic effect of L 043 was proved when given to mice prior to subcutaneous infection with Japanese B encephalitis virus (JEV) and a partial protection also could be observed when administered 3.5 hours post infection.

Moreover, the results showed that L 043 has no direct inactivating activity and

has no toxic effect both on tissue-culture cells and in animals when given with considerable large dose (doses).

Finally, the possibility of containing such antiviral substance in other parts of tissue of *Luffa cylindrica* plant was proposed by the authors.

Key words

Extract of *Luffa cylindrica*; Antiviral effect; Japanese B encephalitis virus