

# 正柴胡饮抗病毒作用的实验研究

贺玉琢 高英杰 富杭育

(中国中医研究院中药研究所 北京 100700)

**摘要** 对正柴胡饮的体内、体外抗病毒作用进行了研究。实验结果表明,在体外,正柴胡饮 4mg/ml 对所试属于 RNA 型的副流感病毒等 6 种、属于 DNA 型的单纯疱疹病毒等 3 种病毒的致细胞病变有抑制作用;在体内,对流感病毒 FM<sub>1</sub> 感染小鼠所致肺病变有显著的抑制作用,并能显著降低流感病毒在小鼠肺内的增殖量。

**关键词** 正柴胡饮 细胞病变 流感病毒 小鼠肺炎 免疫荧光

## Experimental Study on Antiviral Effect of Zheng Chaihu Yin (Orthodox Radix Bupleuri Granule)

*He Yuzhuo, Gao Yingjie, Fu Hangyu*

*(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy  
of Traditional Chinese Medicine, 100700, Beijing)*

**Abstract:** Antiviral effect of Zheng Chaihu Yin (ZCHY) was studied in vitro and in vivo. Experimental data showed that 4mg/ml of ZCHY could inhibit the cytopathic effect induced by parainfluenza and other 5 strains of RNA virus in vitro. ZCHY also inhibited the pulmonary consolidation and virus multiplication in pneumonic mice infected with FM<sub>1</sub> strain of influenza virus.

**Key words:** Zheng Chaihu Yin (Orthodox Radix Bupleuri Granule), cytopathic effect, influenza virus, pneumonia

正柴胡饮源于明·《景岳全书》,由柴胡、陈皮、防风、赤芍、甘草、生姜等药味组成,主治外感风寒、发热恶寒、头疼身痛等症。1985年,我所科研人员将其研制开发成冲剂。1993年已被国家中医药管理局列为首批中医医院急诊必备中成药之一。为了进一步了解其抗

病毒作用范围,我们用了 10 种不同的病毒株,在体外进行了抗病毒谱的研究,同时又重试了体内抗流感病毒作用的研究,现将实验结果报告如下。

### 1 实验材料

**1.1 药物** 正柴胡饮浸膏(5g 生药/g 膏),

由江苏省南通中药厂提供。阳性对照药病毒唑(三氮唑核苷),湖北省医药工业研究所出品。

**1.2 动物** 小白鼠,封闭群瑞士种,13~15g,雌雄不拘,由中国中医研究院实验动物中心提供。

**1.3 病毒** 流感病毒亚甲型鼠肺适应株FM<sub>1</sub>,用于体内试验,为本实验室保存于一60℃低温的毒株;副流感病毒-I、呼吸道合胞病毒(RSV)、腺病毒3、7型(AdV<sub>3,7</sub>)、肠道孤儿病毒11型(ECHO<sub>11</sub>)、柯萨奇B族病毒4、5、6型(CoxB<sub>4,5,6</sub>)、单纯疱疹病毒I、II型(HSV-I、II),分别购自中国医学科学院病毒研究所及儿科研究所,本实验室传代后使用。

**1.4 细胞** 人喉癌传代细胞Hep-2株,购自中国药品生物制品检定所。

**1.5 细胞培养液** 含10%小牛血清、0.29mg/ml谷氨酰胺、100u/ml青、链霉素的Eagles液;细胞维持液:除所含小牛血清为2%外,其它含量均同培养液。

**1.6 标记抗体** 羊抗兔IgG-FITC,上海生物制品研究所生产,4℃保存备用。

**1.7 免疫血清** 用鸡胚尿囊液传代的流感病毒FM<sub>1</sub>免疫家兔,获得高效价的免疫血清,冻于-60℃冰箱备用。

## 2 实验方法

**2.1 正柴胡饮对Hep-2培养细胞的毒性试验** 将药液(1g生药/ml)以细胞培养液作1:4~1:1024倍比稀释,加入到96孔微量培养板已长成Hep-2细胞单层上,每孔加100ul,每个稀释度各加入4孔细胞,同时设正常细胞对照。将培养板置37℃5%CO<sub>2</sub>培养箱中培育4天,每日用倒置显微镜观察药液对细胞的影响,以细胞不出现退变的最小稀释度判为该药对细胞的无毒界限。通过毒性试验观察到,1:256、1:512稀释度(即4,2mg/ml)药液对细胞生长无明显影响,故取这2种稀释度的药液用于抗病毒试验。

**2.2 正柴胡饮对病毒致细胞病变作用的影响** 取已长成单层细胞的培养板,倒掉培养液,接种100TCID<sub>50</sub>的不同病毒液50ul于细胞孔,每种病毒接种8孔,置37℃5%CO<sub>2</sub>培养箱中吸附1小时,倒掉病毒液,用维持液洗细胞面3次后,加入1:256、1:512稀释度药液100ul。同时设病毒、药液、阳性对照药病毒唑、正常细胞等4个对照组,培养4天,每日用倒置显微镜镜检一次,观察细胞有无病变,连续4天。细胞出现病理变化的程度按以下4级标准记录。+:细胞病变约占整个单层细胞的25%以下; ++:细胞病变约占整个单层细胞的50%以下; +++:细胞病变约占整个单层细胞的75%以下; ++++:细胞病变约占整个单层细胞的75%以上。

根据细胞病变程度,用秩和检验法,比较给药组与病毒对照组有无显著性差异。凡试验孔细胞病变程度与病毒对照组有显著性差异者,判为有抑制作用(+),否则判为无抑制作用(-)。试验均经2次重复。

**2.3 正柴胡饮对流感病毒感染小鼠所致病毒性肺炎的影响** 按文献<sup>[1]</sup>的方法,进行病毒性肺炎肺指数的测定。将小鼠按体重随机分为6组,其中3组分别给予正柴胡饮6,12,24g生药/kg/d(中剂量相当于人临床使用剂量),3组分别为病毒唑组,病毒对照组,正常对照组。对照组给予相同药液容积的蒸馏水。除正常对照组外,将小鼠用乙醚轻度麻醉,以15LD<sub>50</sub>流感病毒液滴鼻感染,每只0.05ml。从感染前一天开始给药或水,每天2次,每次0.5ml,连续5天,第6天称取体重,解剖取肺称重,肉眼观察肺部病变,记录肺部肝样实变程度,逐个计算肺指数值,并求出肺指数抑制率。肺指数=肺重(g)/体重(g)×100;肺指数抑制率=[病毒对照组肺指数均值-试验组肺指数均值]÷病毒对照组肺指数均值×100%。肺指数值大,表示肺重量大,肺病变程度严重。将各组肺指数进行组间t检验。

**2.4 正柴胡饮对流感病毒在鼠肺内增殖的影响** 按文献<sup>(2)</sup>方法进行。除病毒感染量为 1000LD<sub>50</sub>外,动物分组,给药方法等均同上。实验组从感染前一天给予正柴胡饮 6, 12, 24g/kg/d,感染病毒后 48 小时处死小鼠,解剖取肺,摘取左侧中叶肺固定,按病理切片常规脱水、包埋、制作石蜡切片。以间接免疫荧光法染色,以荧光素标记的抗流感病毒血清作示踪原,通过间接免疫荧光结合,观察感染鼠肺内特异性的病毒抗原,判断药物对病毒增殖的作用,荧光阳性率高,表明病毒颗粒增殖多,给药组荧光阳性率降低,表明药物对病毒的复制有抑制效果,具有抗病毒作用。

**3 实验结果**

**3.1 对病毒致细胞病变的作用** 表 1 结果表明,正柴胡饮在 2mg/ml 浓度时,对副流感-1、RSV、ECHO<sub>11</sub>、CoxB<sub>4</sub>、B<sub>5</sub>、B<sub>6</sub>、HSV - I 病毒致细胞病变有抑制作用,当药液浓度增至

4mg/ml 时,对 AdV<sub>3</sub>、HSV - 1 病毒也有抑制作用。

**表 1 正柴胡饮对病毒致细胞病变的作用**

病毒	正柴胡饮		
	病毒唑	2mg/ml	4mg/ml
副流感-1	+	+	+
RSV	+	+	+
ECHO <sub>11</sub>	+	+	+
CoxB <sub>4</sub>	+	+	+
CoxB <sub>5</sub>	+	+	+
CoxB <sub>6</sub>	+	+	+
AdV <sub>3</sub>	+	-	+
AdV <sub>7</sub>	-	-	-
HSV - 1	+	-	+
HSV - I	+	+	+

**3.2 对小鼠流感病毒性肺炎的作用** 由表 2 结果可见,正柴胡饮 3 个剂量组动物的肺指数值均显著低于病毒对照组,表明正柴胡饮对流感病毒感染小鼠所致肺病变有抑制作用。

**表 2 正柴胡饮对流感病毒感染小鼠肺病变的作用**

组别	剂量 (g/kg/d)	动物数 (只)	肺指数值 (X±SD)	抑制率 (%)	P 值
病毒对照		10	1.58±0.23		
正常对照		10	1.00±0.12		
病毒唑	0.07	10	1.08±0.14	31.24	<0.01
正柴胡饮	6	10	1.30±0.19	17.63	<0.01
	12	10	1.25±0.25	20.94	<0.01
	24	10	1.32±0.22	16.03	<0.01

**3.3 对小鼠肺内流感病毒增殖量的作用** 表 3 结果表明,正柴胡饮在所试剂量范围内

对小鼠肺内流感病毒增殖量均有显著的抑制作用,具有明显的抗流感病毒效果。

**表 3 正柴胡饮对小鼠肺内流感病毒增殖量的作用**

组别	剂量 (g/kg/d)	动物数 (只)	检查总数	阳性数	阳性率 (%)	抑制率 (%)	P 值
病毒对照		9	280	157	55.29±8.80		
病毒唑	0.07	9	214	75	34.90±7.92	36.89	<0.01
正柴胡饮	6	9	206	81	38.08±13.96	31.13	<0.01
	12	9	168	59	35.54±8.11	35.72	<0.01
	24	9	170	67	39.12±12.21	29.25	<0.01

#### 4 小结与讨论

以正柴胡饮冲剂治疗风寒型感冒已应用数年,为了进一步了解其抗病毒作用范围,我们用了10个不同的病毒毒株,在体外做了抗病毒谱的研究,同时又重试了体内抗流感病毒作用的研究。结果发现,正柴胡饮在4mg/ml对所试10株病毒中的9种,有属于RNA型的副流感-1、RSV、ECHO<sub>11</sub>、CoxB<sub>4</sub>、B<sub>5</sub>、B<sub>6</sub>病毒;有属于DNA病毒的AdV<sub>3</sub>、HSV-1、Ⅰ型。均有抑制病毒致细胞病变作用,并与阳性对照药病毒唑有相似效果。在体内,以正柴胡饮6,12,24g/kg/d灌胃小鼠,对流感病毒感染小鼠所致肺病变有显著的抑制作用,并能显著降低流感病毒在鼠肺内的增殖量。抑

制率与研制过程中<sup>[2]</sup>的相似。试验结果表明,正柴胡饮在体外不仅对所试的属于RNA的6株病毒,而且对属于DNA的3株病毒均有抑制病毒致细胞病变作用,其抗病毒谱较广。在体内,对流感病毒感染小鼠所致病毒性肺炎的程度和病毒感染小鼠肺内的增殖量均有显著的抑制作用,并均保持了研制过程中的药效强度。

#### 参 考 文 献

- [1]中医研究院中药研究所病毒组.慢性气管炎实验方法汇编(二).北京:人民卫生出版社,1979:165
- [2]富杭育等.中药通报 1986;11(4):46