

中药复方血清药理方法学探讨- III *

崔晓兰 贺玉琢 高英杰 周爱香 李小芹 田甲丽 郭淑英 谭余庆 姜廷良
(中国中医研究院中药研究所 北京 100700)

摘要 将所采集的含药血清分为 2 份,其中 1 份经 56 C 30min 灭活,对比灭活前后血清对病毒致细胞病变作用的影响,结果:正常血清灭活后相对作用强度平均降低 50%左右,抑制病毒致细胞病变的作用基本消失;1 次给药采集的含药血清灭活后相对作用强度平均降低 50%左右,2 次给药采集的含药血清灭活后相对作用强度平均降低 35%左右,但两者灭活前所表现的有效时间点均仍然存在。

关键词 中药血清药理学 细胞病变 有效时间点 灭活

Study on Method of Chinese Materia Medica Serum Pharmacology- III

Cui Xiaolan, He Yuzhuo, Gao Yingjie, Zhou Aixiang, Li Xiaoqin,
Tian Jiali, Guo Shuying, Tan Yuqing, Jiang Tingliang

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of TCM, Beijing, 100700)

Abstract: In this experiment, each sample of serum was used after 30 minutes of 56 C inactivation to compare its medical effect before and after inactivation and to make sure of inactive influence on medical effect. Result: Relative inhibition effect of both normal serum and herbage-containing serum on cytopathy caused by virus reduced clearly after inactivation. Effect power of normal serum reduced about 50%, that of herbage-containing serum of single dosing reduced about 50% and twice dosing per day reduced about 35%, while its effective timing point that showed up before inactivation still existed.

Key words: serum pharmacology, cytopathy, effective timing point, inactivation

血清灭活是含药血清制备技术规范化研究中需要解决的问题之一,我们在以往研究的基础上^[1,2],观察了灭活对血清药效的影响,旨在为含药血清制备时血清是否需要灭活提供一定资料。

1 材料

- 1.1 细胞 人喉癌上皮细胞 Hep-2 株。
- 1.2 病毒 副流感病毒-1 型。
- 1.3 培养液 为含 10% 小牛血清的 Engls 液。

2 方法与结果

2.1 方法

2.1.1 含药血清的制备 取大耳白兔 6~8

只,每次每只按 2.3g(饮片)/kg 体重灌胃给药,根据实验要求每日 1 次、多次或多日连续给药。1 日内多次给药时每次间隔 3h,于末次给药后 0.5~9h 耳中央动脉采血,分离血清。然后每份血清分为 2 份,1 份 4 C 冰箱保存,于 24h 内用于实验;1 份经 56 C,30min 灭活后和第 1 份血清同时实验。正常血清 1 日给药时在给药前同体采血,若多日给药则另设一组在同等条件下灌胃蒸馏水。

2.1.2 血清对病毒致细胞病变作用的影响

取已长成单层的 Hep-2 细胞板,用 100TCID₅₀ 的副流感病毒攻击,1h 后弃去病毒液,加相应的血清,同时设病毒对照组和细胞对照组。细胞病变程度按以下方式转换为数字表示:

* 国家自然科学基金重点项目 No. 39630360

$$\begin{matrix} - & \pm & + & ++ & +++ & ++++ \\ 0 & 0.5 & 1 & 2 & 3 & 4 \end{matrix}$$

$$\text{相对细胞病变度} = \frac{\sum(\text{孔数} \times \text{转换后数字})}{\text{总孔数}}$$

$$\text{相对作用强度} = 4 - \text{相对细胞病变度}$$

2.2 结果

2.2.1 含桂枝汤兔血清灭活前后对副流感病毒-1型致CPE作用的影响

表1 含桂枝汤兔血清灭活前后对副流感病毒-1致CPE作用的影响

组别	时间-药效曲线下面积		下降率 %
	灭活前	灭活后	
正常血清组	4.386	2.412	45
	3.412	1.569	54
	4.532	2.261	50
	2.175	1.262	42
	3.721	2.121	43
每日1次1d	4.653	2.583	44
每日1次2d	5.132	2.155	58
每日1次3d	2.876	1.524	47
每日2次1d	4.198	2.543	38
每日2次2d	3.652	2.528	31

表中结果显示:含桂枝汤兔血清灭活前后抑制副流感病毒-1致CPE的作用明显降低,正常血清及1次给药采集的含药血清灭活后时间-药效曲线下面积降低约50%左右;2次给药后采集的含药血清灭活后时间-药效曲线下面积降低约35%左右。

2.2.2 含桂枝汤兔血清灭活前后对抑制副流感病毒-1致CPE作用有效时间点的影

见表2。

表2 含桂枝汤兔血清灭活前后的有效时间点

给药方案	有效时间点(h)	
	灭活前	灭活后
每日1次1d	×	×
每日1次2d	4~5	4~5
每日1次3d	2	2
每日2次1d	5~7	5~7
每日2次2d	1~6	1~6

图中结果显示:灭活前后各种方案制备的含药血清所反应的有效时间点不受影响。

3 讨论

血清中固有的酶、抗体、补体及其它生物活性物质,它们对体外培养的细胞、病毒、病原菌以及直接用于体外实验的组织器官是否会产生影响而直接干扰实验结果,血清经灭活后是否可排除这些干扰因素以及在排除这些干扰因素的同时对药效产生如何影响,是含药血清制备时需要解决的问题之一。本实验中,每份血清经56℃,30min水浴灭活后用于实验,比较灭活前后的抗病毒作用,发现正常血清及含药血清灭活后对病毒致细胞病变的抑制作用较灭活前均有所降低,但降低的程度各不相同。正常血清灭活后相对作用强度平均降低50%左右,抑制病毒致细胞病变的作用基本消失。而含药血清灭活后降低的程度与给药次数有关,一次给药后相对作用强度平均降低50%左右,二次给药平均降低35%左右,但灭活前所表现出的有效时间点仍然存在,并不受影响。由此可见,含药血清经56℃,30min灭活后尽管抑制病毒致细胞病变的作用明显降低,但它并没有影响在灭活前所表现的有效作用点,而且还可以排除正常血清对实验结果的干扰,另外我们在实验中还观察到灭活组的细胞生长情况要比未灭活组好,因此,推荐在进行体外抗病毒实验时采用灭活血清较好。

参考文献

- 1 崔晓兰,贺玉琢,高英杰,等. 中药复方血清药理研究方法学探讨-I. 中国实验方剂学杂志, 1998,4(2):13
- 2 崔晓兰,贺玉琢,高英杰,等. 中药复方血清药理研究方法学探讨-II. 中国中西医结合杂志, 1998,4(3):45

(收稿:1998-07-17)