

• 基层园地 •

中药提取物抗鸭肝炎病毒试验

路振香^{1,2*}, 李国东¹

(1. 安徽科技学院动物科学学院,
安徽 凤阳 233100;
2. 家禽疫病防控监测安徽省重点实验室,
安徽 凤阳 233100)

鸭病毒性肝炎(Duck viral hepatitis, DVH)是由鸭肝炎病毒(Duck hepatitis virus, DHV)引起的一种急性高度传染性疾病,主要侵害3周龄以内的雏鸭,病毒侵入鸭体后,随血流能迅速广泛分布于脑,肺,心,肝,脾等器官及腿部肌肉组织,并能引起这些组织和器官充血,出血及坏死等变化。世界上所有主要养鸭地区均有DHV存在,给养鸭业造成巨大的经济损失。目前,最有效的防治该病办法是疫苗免疫,但是还没有能有效治疗鸭病毒性肝炎的药物^[1]。本文选用部分具有清热解毒,提高机体免疫功能的单味中草药提取物进行抗鸭肝炎病毒研究,旨在筛选出对鸭肝炎病毒具有明显作用的中草药,为开发利用中草药提供理论依据。

1 材料

1.1 药物及制备 连翘、百部、金银花、栀子、甘草、大青叶、板蓝根、叶下珠、白头翁、黄柏、虎杖、紫花地丁、蒲公英,以上药物均购于安徽同仁堂饮片有限公司。中药水提物的制备:称取药物20g加水300mL煎煮至沸腾并保持微沸30min(1~3次)→合并煎煮液→过滤→取上清液浓缩至20mL→高压蒸汽灭菌,备用。中药醇提物的制备:粉碎药物得到粗粉20目→称取药物20g加入60%乙醇浸泡12h(300mL)→热回流提取2次→合并滤液(脱脂棉初滤)→静置1d→过滤→浓缩至20mL→高压蒸汽灭菌,备用。以上提取液每1mL相当于原药材1g。

1.2 鸡胚 9日龄非免疫鸡胚购自安徽科技学院畜牧科技园孵化室。

1.3 病毒 鸭肝炎病毒由安徽科技学院动物医学实验室提供。

2 方法

2.1 鸡胚的分组 将9日龄非免疫鸡胚随机分为42组,每组3枚,分别为混合组共20组(接种等体积的药液和病毒液的混合液共0.2mL)、预防组共20组(先接种0.1mL药液,24h后接种0.1mL病毒液)、病毒对照组(接种0.2mL病毒

液),空白对照组(接种0.2mL生理盐水)。

2.2 鸡胚的接种和培养 全部为绒毛尿囊腔内接种。药物的稀释和病毒接种参照文献^[2,3]方法进行。混合组每枚鸡胚接种0.2mL混合液(等体积上述浓度的中药和病毒混合液,37℃作用2h)。用石蜡封上小孔,置37℃孵育。预防组每枚鸡胚先接种0.1mL中药稀释液,37℃孵化24h后,每枚鸡胚接种0.1mL病毒稀释液,接种后,置37℃孵育。病毒对照组按上述方法每枚鸡胚接种0.2mL病毒液,接种后,置37℃孵育。对照组按上述方法每枚鸡0.2mL生理盐水,接种后,置37℃恒温箱孵育。

2.3 鸡胚的观察 将接种过的鸡胚置37℃孵育,每天照蛋检查2次,死亡鸡胚置4℃冰箱过夜,然后进行胚体病变检查和结果记录。

3 结果

3.1 中药处理对DHV接种鸡胚存活时间的影响 见表1。

表1 每枚鸡胚以100mg生药中药提取液对DHV感染鸡胚存活时间的影响

中药名称	提取方法	混合组鸡胚存活时间(h)	预防组鸡胚存活时间(h)
连翘	水提取液	38.0±11.3	253.3±24.5 ²⁾
蒲公英	水提取液	46.0±11.3	100.7±15.6 ¹⁾
金银花	水提取液	56.7±3.8	114.7±46.2 ¹⁾
栀子	水提取液	173.3±81.3 ²⁾	108.7±3.8 ¹⁾
甘草	水提取液	46.0±11.3	268.0±28.3 ²⁾
白头翁	水提取液	126.0±22.9 ¹⁾	138.0±0.0 ¹⁾
大青叶	水提取液	187.3±77.3 ²⁾	84.77±20.0 ¹⁾
虎杖	水提取液	68.7±10.4	66.7±21.7 ¹⁾
板蓝根	水提取液	76.7±18.8	103.3±18.9 ¹⁾
黄柏	水提取液	46.0±11.3	100.7±26.4 ¹⁾
紫花地丁	水提取液	84.0±11.3	104.0±42.9 ¹⁾
叶下珠	水提取液	66.7±6.6	131.3±34.9 ¹⁾
白头翁	醇提取液	86.7±10.0 ¹⁾	178.0±84.7 ²⁾
叶下珠	醇提取液	38.0±11.3	74.0±11.3
大青叶	醇提取液	129.3±16.4 ¹⁾	138.7±12.3 ¹⁾
金银花	醇提取液	66.7±6.6	46.0±9.1
黄柏醇	醇提取液	68.7±10.4	122.0±13.3 ¹⁾
百部	醇提取液	124.7±41.7 ¹⁾	216.0±50.9 ²⁾
连翘	醇提取液	59.3±3.8	206.7±16.4 ²⁾
紫花地丁	醇提取液	38.0±11.3	44.0±0.0
病毒对照组	醇提取液	37.3±6.6	—
空白对照组	醇提取液	287.7±6.1 ²⁾	—

注:与病毒对照组相比较,¹⁾P<0.05,²⁾P<0.01

4 讨论

从本次试验结果可以看出:中药提取物抗鸭肝炎病毒的

[收稿日期] 2008-07-31

[通讯作者] * 路振香, Tel: (0550) 6733162; E-mail:

luzhenxiang2002@126.com

效果,取决于该中药有效成分及提取方法和作用形式,如甘草水提液,连翘水提液,白头翁醇提液等在预防组的效果明显,梔子水提液,大青叶水提液在混合组的效果明显,虎杖水提液,叶下珠醇提液等抗鸭肝炎病毒效果较弱。

对 6 种抗鸭肝炎病毒效果明显的中草药提取液的试验结果计算得出,预防组鸡胚平均存活时间为 184.8 h。而混合组鸡胚平均存活时间为 109.3 h。因此,中草药用于预防 DVH 的效果比发病后再进行治疗产生的效果要好得多。这可能是由于中草药具有调节机体机能和提高免疫功能,能够提高鸡胚自身的免疫能力和抗病能力,因而,预防组的总体抗病毒效果好于混合组。

[参考文献]

[1] 胡守萍,曲连东,付德霞. 鸭病毒性肝炎的研究简报[J]. 中国家禽, 1999, (1): 14-16.

[2] 路振香,时维静,钱卫东. 20 份中药提取液抗禽流感病毒作用的试验研究[J]. 中国中医药科技, 2006, 13(2): 97-98.

[3] 姚火春. 兽医微生物学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 101-104.

注射用舒血宁对小鼠耐缺氧能力的影响

程敏¹, 叶小弟¹, 缪云萍¹, 陈爱瑛¹,
诸葛定娟¹, 郑高利^{1*}, 叶剑锋²

(1. 浙江省医学科学院药物研究所, 浙江 杭州 310013; 2. 浙江康恩贝中药与天然药物研究院, 浙江 杭州 310052)

银杏叶提取物银杏黄酮是防治高血脂、心脑血管疾病的有效成分之一,通过扩张冠脉血管和脑血管,加强神经系统对血管的生理调节,缓解血管痉挛等机制来增加心脑血管血液供应,有效缓解冠心病、心绞痛发作,消除脑缺血的各种症状^[1]。本文通过几种小鼠动物缺氧模型考察注射用舒血宁对缺氧模型动物的保护作用。

1 试验材料

1.1 药物 注射用舒血宁,淡黄色粉末,每瓶含提取物 17.5 mg,其中总黄酮醇苷 4.2 mg,萜类内酯 1.2 mg,由浙江康恩贝药品研究开发有限公司生产提供,批号: 040305,临用时用 5% 葡萄糖注射液溶解;注射用丹参,0.4 g/瓶,哈药集团中

二厂生产,批号: 20050129;盐酸异丙肾上腺素注射液,规格: 1 mg/支,2 mL/支,上海禾丰制药有限公司生产,批号: 4E20001;亚硝酸钠,分析纯,中国上海试剂一厂生产,批号: 840809;钠石灰,医药用,上海五四化学试剂有限公司生产,批号: 041203;5% 葡萄糖注射液,国营张家港市制药厂生产,批号: 04022001。

1.2 动物 ICR 小鼠,清洁级,浙江省实验动物中心提供,动物合格证号: SCXK(浙)2003-0001。

2 统计方法

所有数据表示为($\bar{x} \pm s$),进行组间 *t* 检验。

3 方法和结果

3.1 对小鼠常压耐缺氧能力的影响 ICR 小鼠,50 只,雄性,体重 19~ 22 g。随机分成 5 组,每组 10 只,分别尾 iv 5% 葡萄糖注射液(对照组)、注射用丹参 100 mg·kg⁻¹(阳性药组)、注射用舒血宁 35, 18 和 9 mg·kg⁻¹。10 min 后将小鼠放入 250 mL 广口(磨口)瓶中(瓶中放有约 10 g 钠石灰),磨口处涂抹凡士林以保证容器的密闭性,盖上瓶盖时间为起始时间,观察小鼠反应,记录小鼠存活时间^[2](以呼吸停止为死亡标志,下同)。结果见表 1。

表 1 注射用舒血宁对正常小鼠常压耐缺氧能力的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量(mg·kg ⁻¹)	体重(g)	存活时间(min)
正常对照	—	20.1 ± 0.7	28.4 ± 4.1
注射用丹参	100	20.3 ± 1.2	33.0 ± 2.2 ²⁾
注射用舒血宁	35	20.1 ± 1.0	34.1 ± 4.6 ²⁾
	18	20.3 ± 0.9	31.8 ± 2.5 ¹⁾
	9	20.5 ± 1.1	31.4 ± 2.2

注: 和对照组比较¹⁾ *P* < 0.05, ²⁾ *P* < 0.01

表 1 结果显示,注射用舒血宁 35, 18 mg·kg⁻¹ 剂量能明显提高正常小鼠常压耐缺氧的能力,延长小鼠存活时间。

3.2 对异丙肾上腺素处理小鼠耐缺氧能力的影响^[3] ICR 小鼠,60 只,雄性,体重 19~ 22 g。随机分成 6 组,每组 10 只,按表 2 所示剂量 iv 给药,1 次/d,连续 7 d,正常对照和模型组给相同体积的 5% 葡萄糖注射液。末次给药后正常对照组立即 s. c 0.9% 氯化钠注射液 5 mL·kg⁻¹,其他各组立即 s. c 盐酸异丙肾上腺素 5 mL·kg⁻¹(0.5 mg·mL⁻¹),15 min 后放入盛有约 10 g 钠石灰的 250 mL 磨口瓶中,进行耐缺氧试验(同 3.1)。结果见表 2。

异丙肾上腺素使小鼠耗氧量明显提高,耐缺氧能力下降,生存时间缩短。注射用舒血宁 35, 18 mg·kg⁻¹ 和注射用丹参均能显著提高小鼠异丙肾上腺素模型耐缺氧的能力,显著延长存活时间。

3.3 对亚硝酸钠引起缺氧致小鼠死亡的影响 ICR 小鼠,清洁级,60 只,雄性,体重 18~ 22 g。随机分成 6 组,每组 10 只,按表 3 所示剂量尾 iv 给药,1 次/d,连续 7 d,正常对照和模型组给相同体积的 5% 葡萄糖注射液。末次给药后 10 min 正常

[收稿日期] 2008-07-28

[通讯作者] * 郑高利, Tel: (0571) 88215620; E-mail: gaoliz@163.com