

肝能滴丸在鸭体内对鸭乙型肝炎病毒感染的治疗效果

韩玉梅¹, 李正明¹, 袁海龙^{1*}, 刘毅², 赵艳玲¹

(1. 北京解放军第三〇二医院药学部, 北京 100039; 2. 成都中医药大学药学院, 四川 成都 610075)

[摘要] 目的: 观察肝能滴丸对鸭乙型肝炎病毒感染的治疗效果。方法: 采用一日龄北京鸭静脉注射鸭乙型肝炎病毒, 7d 后开始给鸭口服肝能滴丸 125、250 和 500mg/kg 3 个剂量, 每天 2 次, 给药 10d, 观察药物对鸭的毒性和鸭血清乙型肝炎病毒 DNA (DHBV-DNA) 的影响。结果: 肝能滴丸在 250mg/kg 组对鸭乙型肝炎病毒感染有可重复的显著治疗效果。500mg/kg 组有较好的效果, 125mg/kg 组无抑制作用。结论: 肝能滴丸有良好的抗鸭乙肝病毒效果。

[关键词] 鸭乙型肝炎病毒 DNA; 肝能滴丸; 拉米夫定

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2006)04-0043-02

Curative Effect of Ganneng Dropping Pills on Ducks in vivo Transfected by DHBV

HAN Yu-mei¹, LI Zheng-ming¹, YUAN Hai-long¹, LIU Yi², ZHAO Yan-ling¹

(1. Department of Pharmacy, 302 Hospital of PLA, Beijing 10039, China;

2. Chengdu University of TCM, Sichuan Chengdu 610075, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the curative effect of Ganneng Dropping Pills on ducks transfected by DHBV. **Methods:** The Beijing ducks of one day age injected DHBV (*in vivo*) were feeding Ganneng Dropping Pills of different dose concentrations (125, 250 and 500mg/kg) two times a day, then observe the influence of this drugs on DHBV-DNA and on the toxicity to ducks seven days later. **Results:** The middle-dose concentration (250mg/kg) showed apparent curative effect on ducks, and the high-dose concentration (500mg/mL) showed definite effect, while the low-dose concentration (125mg/mg) showed no inhibitory effect on DHBV. **Conclusion:** Ganneng Dropping Pills have curative effect on ducks in vivo transfected by DHBV.

[Key words] DHBV-DNA; Ganneng Dropping Pills; Lamivudine

肝能滴丸是由葫芦科植物波棱瓜 *Herpetos Permum Pedunculosum* (Sex.) Baill. 的干燥种子中提取分离的活性成分组成, 其中木脂素类成分约占 87.9%^[1], 具有保肝降酶作用。以感染鸭乙型肝炎

病毒的鸭为动物模型, 研究了本制剂对乙肝病毒的抑制作用, 现报道如下。

1 材料

1.1 药物 肝能滴丸(解放军第 302 医院药物研究室提供, 批号 040218); 拉米夫定(葛兰素威康制药公司, 批号 00212008)。

1.2 试剂及用品 $\alpha^{32}\text{P}$ -dCTP 由北京福瑞生物技术工程公司提供; 缺口翻译药盒由普洛麦格公司 (Promega Co.) 提供; SePhadex G-50 Ficol PVP 由瑞典 Pharmacia 公司提供; 十二烷基磺酸钠由西德 Merck

[收稿日期] 2005-05-09

[基金项目] 北京市重大疾病的创新药物研究 (D0204003040931)

[通讯作者] 袁海龙, Tel: (010) 66933324; E-mail: yhlky1970@yahoo.com

公司提供; 鱼精 DNA、牛血清白蛋白由中国科学院生物物理所提供; 硝酸纤维素膜(0.45 μ m)由 Amersham 公司提供。

1.3 病毒 鸭乙型肝炎病毒 DNA(DHBV-DNA) 强阳性血清, 采自上海麻鸭, -70℃保存。

1.4 动物 1 d 龄北京鸭由北京前进种鸭场动物饲养场提供。

2 方法

2.1 鸭乙型肝炎病毒感染^[2] 1 日龄北京鸭, 经腿胫静脉注射上海麻鸭 DHBV-DNA 阳性鸭血清^[3], 每只 0.2mL, 在感染后 7d 取血, 分离血清, -70℃保存待检。DHBV 感染雏鸭 7d 后随机分组进行药物治疗试验, 每组 6 只, 给药组分 3 个剂量组, 分别为 125、250 和 500mg/kg 组, 口服, 1d 2 次, 连续 10d。设病毒对照组(DHBV), 以生理盐水代替药物。阳性药用拉米夫定(3TC), 口服给药 50mg/kg, 1d 2 次, 10d。在感染后第 7d 即用药前(T0), 用药第 5d(T5), 用药第 10d(T10) 和停药后第 3d(P3), 自鸭腿胫静脉取血, 分离血清, -70℃保存待检。

2.2 检测方法 取上述待检血清, 每批同时点膜, 测定鸭血清中 DHBV-DNA 水平的动态^[4,5]。按缺口

翻译试剂盒说明书方法, 用³²P 标记 DHBV-DNA 探针, 并作鸭血清斑点杂交, 放射自显影膜片斑点, 在酶标检测仪测定 OD 值(滤光片为 490nm), 计算血清 DHBV-DNA 密度, 以杂交斑点 OD 值作为标本 DHBV-DNA 水平值。将同组鸭用药前后血清 DHBV-DNA 的平均值及不同组鸭同一时间血清 DHBV-DNA 平均抑制率进行比较, 判断药物疗效。DHBV-DNA 抑制率公式:

$$\text{DNA 抑制率}(\%) = \frac{\text{给药前 OD 值} - \text{给药后 OD 值}}{\text{给药前 OD 值}} \times 100\%$$

2.3 数据处理 实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 统计用 *t* 检验。

3 结果与讨论

雏鸭感染乙肝病毒后 DHBV-DNA 全部阳性。肝能滴丸 500mg/kg 组、250mg/kg 组在给药 5、10d, 无论给药前后比较还是与对照组比较, 鸭血清中 DHBV-DNA 水平都有所降低($P < 0.05$, $P < 0.01$), 低剂量组则无明显抑制作用; 阳性药拉米夫定在用药期间可显著抑制鸭 DHBV-DNA, 但停药后抑制率下降至 9.72%, 出现病毒重新复制的“反跳”现象, 结果见表 1、2。

表 1 肝能滴丸口服在鸭乙型肝炎病毒感染鸭体内治疗组与病毒感染对照组鸭血清 DHBV-DNA OD 值比较($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	剂量 mg/kg	鸭血清 DHBV-DNA OD 值			
		T0	T5	T10	P3
生理盐水		1.305 ± 0.24	1.719 ± 0.56	1.291 ± 0.63	1.424 ± 0.63
肝能滴丸	125	0.715 ± 0.14	0.675 ± 0.09	0.582 ± 0.12	0.799 ± 0.24
	250	0.869 ± 0.04	0.632 ± 0.14 ¹⁾	0.478 ± 0.16 ¹⁾	0.681 ± 0.03
	500	0.940 ± 0.36	0.719 ± 0.27 ¹⁾	0.578 ± 0.11 ¹⁾	0.708 ± 0.14
3TC	50	1.014 ± 0.08	0.818 ± 0.09 ²⁾	0.498 ± 0.10 ²⁾	0.911 ± 0.06

注: 与感染前比较。¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (配对 *t* 检验)。

表 2 肝能滴丸口服在鸭乙型肝炎病毒感染鸭体内治疗组与病毒感染对照组鸭血清 DHBV-DNA 水平抑制率的比较($n = 6$)

组别	剂量 mg/kg bid × 10	抑制率(%)		
		T5	T10	P3
生理盐水	-	30.39	0.05	10.83
肝能滴丸	125	5.59	18.60	11.75
	250	27.27 ¹⁾	44.99 ²⁾	21.63
	500	23.51 ¹⁾	38.51 ¹⁾	24.68
3TC	50	18.90	51.03 ²⁾	9.72

注: 与病毒对照组比较。¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (成组 *t* 检验)。

抗病毒治疗的目的是持续抑制病毒的复制, 病毒模型的选择在评价药物疗效中起着极其重要的作用。本实验采用常用的感染鸭乙型肝炎病毒的鸭为实验动物, 以拉米夫定为阳性对照, 评价肝能滴丸对鸭乙型肝炎病毒的抑制效果。结果表明, 肝能滴丸

可明显地抑制鸭乙肝病毒的复制, 治疗鸭乙型肝炎病毒感染有效, 提示其作为抗乙型肝炎病毒的新药, 具有良好的开发应用价值。

[参考文献]

- [1] 袁海龙. 波棱素化合物及其制法和其药物组合物与用途[P]. 国家发明专利, 申请号: 03123965X.
- [2] 陈鸿珊, 李壮, 钱荷英, 等. 阿糖腺苷单磷酸鸭乙型肝炎的治疗[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 1983, 1: 64.
- [3] Tsiquaye KN. Maternal transmission of duck hepatitis B virus in Peaigree Pekin ducks[J]. Hepatology, 1985, 5: 622.
- [4] 陈渊清, 顾建人, 蒋惠秋, 等. 阿糖腺苷单磷酸鸭乙型肝炎的治疗效果[J]. 中华传染病杂志, 1983, 1: 64.
- [5] 杨永刚, 李壮, 陈鸿珊. 鸭乙型肝炎病毒感染后在外周和肝脏中的动态[J]. 病毒学报, 1988, 4: 259.