

泽漆麻对几种呼吸道感染病毒的作用

中国人民解放军

59175 部队
371 医院

中药泽漆麻，学名罗布麻 (*Apocynum venetum*)，有清热去火，防治头痛等功效。1971年以来试用于临床防治感冒，获得一定效果。为进一步提高药物的防治效果，需要了解它对呼吸道感染病毒有无作用及其作用原理。我们用组织培养模拟临床滴鼻防治，以检查泽漆麻在局部对呼吸道病毒的作用。

试 验 方 法

一、药物对细胞组织的毒性作用

用不同浓度 (0.25—100%) 泽漆麻酒精浸

液分别加到下列组织培养中：HeLa 细胞单层培养、人胚肾细胞单层培养和人胚鼻粘膜器官培养，作用 1 小时后，将药液倒尽，加入维持液。细胞采用 37°C 静止培养，器官采用 32°C 16 转/小时旋转培养。

二、试验病毒的选择及培养

引起感冒的主要病毒是鼻病毒及流感病毒^[1]，这二种病毒都是核糖核酸病毒；腺病毒在感冒病原中虽不如上述二种病毒重要；但在儿童呼吸道感染中占相当重要地位，且是属于脱

氧核糖核酸的另一类病毒;因此,我们选用这三种病毒作为试验泽漆麻作用的对象,鼻病毒为我室分离的 71-202 株,甲型流感病毒及 7 型腺病毒。鼻病毒的细胞培养及流感病毒的器官培养采用 32°C 旋转培养,腺病毒及流感病毒的细胞培养采用 37°C 静止培养。

三、在组织培养中模拟临床预防

用毒性临界浓度的药液(Hanks 液配制)在室温下作用组织培养 1 小时,将药液倒尽后,有的用 Hanks 液洗涤细胞单层 1 次,有的不洗;细胞培养受药液处理 1—4 次(每天 2 次,连续 2 天);器官培养受药液处理 1 次。处理后立即或间隔一定时间感染病毒,培养观察 3—7 天,以确定有无抑制病毒作用。

四、在组织培养中模拟临床治疗

组织培养经感染病毒后 5 小时(病毒开始繁殖时间)及 24 小时(临床开始出现症状时间)用毒性临界浓度的药液在培养温度下作用 1 小时,将药液倒尽后不洗涤,加入维持液,培养观察 3—7 天,确定是否抑制病毒。

五、用细胞培养检查药液对病毒的直接抑制作用

将不同浓度的病毒及药液在试管中等量混合,置于室温或培养温度中作用 1 小时,将这混合液稀释至所含药物浓度为毒性临界浓度,接种细胞培养 1 小时后,倒尽混合液,换入维持液,进行培养观察。

对照试验,以相应 pH 的 Hanks 液代替药液

同时进行试验。

试验结果

泽漆麻浸液对细胞的毒性作用相当强。浓的(40% 以上)泽漆麻浸液能使细胞固缩,胞核肿胀,经活体染色(0.1% 伊文思兰液),呈现出几乎全是死细胞,个别残存活细胞结构模糊。器官培养中的人胚鼻粘膜经浓药液处理后 1 小时,纤毛运动就显著减慢,培养过夜后纤毛运动停止及脱落,同时有大量细胞肿胀及脱落。泽漆麻浸液处理细胞 1 小时的毒性临界浓度是 1%。泽漆麻浸液的 pH 较酸(4.7),应用相同 pH 的 Hanks 液作对照试验,证明药液引起的细胞变化不是由于酸性所致。由于浓的泽漆麻浸液在组织培养中显示对细胞相当强的毒性作用,我们试图提取一般认为是中草药中有效成份的黄酮类化合物进行试验:用饱和明矾液提取黄绿色沉淀物 I,用丙酮从 I 提取三种棕黄色物 II、III、IV,用 NaOH 从丙酮提取后残存物中提取棕红色物 V。用 Hanks 液配制的这 5 种提取物,对 HeLa 细胞的毒性临界浓度相应为 1%、1%、30%、1% 及 20%。

一、泽漆麻浸液对鼻病毒感染模拟防治的结果(见表 1、2)

试验结果初步说明: 1% 泽漆麻浸液对鼻病毒感染模拟预防作用不强;药液接触细胞后被洗去就不显作用。残留少量药液可以延迟立即感染的病毒繁殖,但处理 2 天后再感染,就没有病毒受抑制现象。但该浸液对鼻病毒感染的模拟治疗作用明显,早期(感染后 12 小时内)治

表 1 1% 泽漆麻浸液在 HeLa 细胞培养中对鼻病毒感染模拟预防作用

试验编号	用药次数	用药后处理	末次用药与感染间隔时间(小时)	病毒感染量(TCD ₅₀)	抑制病毒效果*
1	2	倒尽洗涤	0	300	—
2	1	倒尽不洗	0	100	±
3	4	第 1—3 次倒尽洗涤 第 4 次倒尽不洗	0	100	±
4	4	”	0	56	±
	4	”	48	56	—

* “—”无作用,“±”细胞病变延迟 1 天出现。

表 2 1% 泽漆麻浸液在 HeLa 细胞培养中对鼻病毒感染模拟治疗作用

试验编号	用药次数	用药后处理	感染与首次用药 间隔时间(小时)	病毒感染量 (TCD ₅₀)	抑制病毒效果*
1	1	倒尽不洗	5.5	300	+
2	1	”	5	100	+
	1	”	24	100	±
3	1	”	12	56	+
4	4	第 1 次倒尽不洗 第 2—4 次倒尽洗涤	24	100	+

* “±”细胞病变延迟 1 天出现,“+”抑制细胞病变。

疗 1 次就可以抑制 56—300TCD₅₀ (组织培养半数感染量) 病毒引起细胞病变(观察 5—7 天); 感染后 24 小时经连续治疗 2 天, 每天 2 次, 仍有明显作用; 用相应 pH 的 Hanks 液作对照试验, 不呈现任何抑制病毒作用。我们又进一步试验 5 种泽漆麻提取物在 HeLa 细胞培养中对鼻病毒感染的作用, 它们都不能直接抑制鼻病毒, 毒性临界浓度的提取物 II—V 对极少量鼻

病毒 (3 TCD₅₀) 也无明显模拟防治作用, 提取物 I (1%) 的模拟防治作用和泽漆麻浸液相似, 但效果较差。

二、泽漆麻浸液对流感病毒感染的模拟防治作用(见表 3、4)

试验结果初步说明: 1% 泽漆麻浸液在细胞培养中对甲型流感病毒感染的模拟预防作用

表 3 1% 泽漆麻浸液对流感病毒感染模拟预防作用

试验编号	组织培养种类	用药次数	用药后处理	末次用药与感染 间隔时间(小时)	病毒感染量 (TCD ₅₀)	抑制病毒效果*
1	HeLa 细胞	2	倒尽洗涤	0	3	-
2	HeLa 细胞	1	倒尽不洗	0	3	±
3	HeLa 细胞	4	第 1—3 次倒尽洗涤 第 4 次倒尽不洗	0	3	±
4	人胚肾细胞	1	倒尽不洗	0	20	±
5	人胚鼻粘膜器官培养	1	倒尽不洗	0	10	±
6	人胚鼻粘膜器官培养	1	倒尽不洗	0	200	±
	人胚鼻粘膜器官培养	1	倒尽不洗	48	200	-

* “-”无作用“±”血细胞吸附(细胞培养)血凝及细胞病变(人胚肾细胞及器官培养)延迟 1—3 天出现 “+”明显抑制血凝及细胞病变。

表 4 1% 泽漆麻浸液对流感病毒感染模拟治疗作用

试验编号	组织培养种类	用药次数	用药后处理	感染与首次用药 间隔时间(小时)	病毒感染量 (TCD ₅₀)	抑制病毒效果*
1	HeLa 细胞	1	倒尽不洗	5	3	±
2	HeLa 细胞	4	第 1 次倒尽不洗 第 2—4 次倒尽洗涤	5	3	±
	HeLa 细胞	4	第 1 次倒尽不洗 第 2—4 次倒尽洗涤	24	3	-
3	人胚肾细胞	1	倒尽不洗	5	20	±
4	人胚鼻粘膜器官培养	1	倒尽不洗	5	10	+
	人胚鼻粘膜器官培养	1	倒尽不洗	24	10	±
	人胚鼻粘膜器官培养	1	倒尽不洗	5	200	+
	人胚鼻粘膜器官培养	1	倒尽不洗	24	200	-

* 同表 3 注。

不强,仅能延迟细胞病变、血细胞吸附及血凝的出现;但在器官培养中模拟早期治疗(5小时),作用相当明显。用人胚肾细胞培养,发现1%泽漆麻浸液对少量甲型流感病毒(10TCD_{50})有直接抑制作用(观察5—7天),但对较多量病毒(100TCD_{50})仅能延迟细胞病变及血细胞吸附的出现。

三、泽漆麻浸液对腺病毒的作用

1%泽漆麻浸液,即使处理细胞4次,对极少量腺病毒(3TCD_{50})也无模拟防治作用。

讨论及小结

泽漆麻对鼻病毒及流感病毒感染有一定的抑制作用,但这种作用与培养物中残存有药液

密切相关。泽漆麻浸液用作模拟早期(24小时内)治疗鼻病毒感染有较好作用,但对流感病毒感染的作用似乎较差;临床试用初步认为泽漆麻治疗症状初起的不发热性感冒有较好效果,这和我们实验室所得结果是基本一致的,应用泽漆麻提取物对鼻病毒感染模拟防治效果不如泽漆麻浸液,这可能由于所采用的提取方法还未获得有效成份。泽漆麻浸液对甲型流感病毒感染模拟治疗试验中,器官培养的结果胜过细胞培养,这说明采用不同方法所得药物作用结果可以不同。泽漆麻浸液对流感病毒有一定的直接作用;但对鼻病毒是通过细胞而起抑制作用,从试验结果看来,有可能是通过药物阻止病毒自细胞释出,从而表现一定的抗病毒作用,是否如此,则有待作进一步的验证。