

麻杏石甘汤中抗新城疫病毒有效成分的研究

崔澜澜¹, 李吉轩², 齐仁立¹, 刘小匆³, 梁建军¹, 张慧茹¹

(¹河南工业大学, 郑州 450000; ²乾元浩生物股份有限公司郑州生物药厂, 郑州 450000;

³广州天地实业有限公司, 广州 510000)

摘要:新城疫是由新城疫病毒引起的禽传染性疾病。麻杏石甘汤方剂对目前生产中常发的呼吸道疾病有明显的治疗作用, 也有抗病毒和抑菌作用。通过对麻杏石甘汤中4味药物的不同剂量比例组方, 采用煎煮的方法提取药物有效成分。测定提取液对鸡胚的最大致死浓度和对红细胞的凝集作用; 以药液的不同浓度直接作用于病毒, 接种鸡胚检验病毒滴度的变化, 观察发现8种配方都有抑制病毒的作用, 其中麻黄是发挥抗病毒作用的主要成分。药物对病毒的抵抗作用与药物本身对红细胞的凝集作用没有直接的联系。

关键词:麻杏石甘汤; 鸡新城疫病毒; 鸡胚法; 抗病毒作用

中图分类号: S853.23 **文献标识码:** A

Effect on Anti-Newcastle Disease Virus Action Examination of Maxingshigan Decoction Compositions

Cui Lanlan¹, Li Jixuan², Qi Renli¹, Liu Xiacong³, Liang Jianjun¹, Zhang Huiru¹

(¹Henan University of Technology, Zhengzhou 450000; ²Qian Yuan Hao Biological Co., Ltd, Zhengzhou 450000;

³Guangzhou Tinder Industries Co., Ltd., Guangzhou 510000)

Abstract: Newcastle disease is one of poultry infectious diseases caused by Newcastle disease virus. Maxingshigan Tang has the obvious therapeutic effects to the respiratory disease, also has the function of antiviral and the bacteriostasis. By four different doses of the medicine group of Maxingshigan Tang, using the decoction method extracted the medicine active ingredients. By determining the extract to the chicken embryo's maximum lethal concentration and hemagglutination. By different medicine liquor concentration direct action in virus, inoculate embryo determine the change of virus titer, found that all 8 compoundings have the effect of antiviral, and Mahuang is the essential component. Medicine has no directly relation in both antiviral and hemagglutination.

Key words: Maxingshigan Tang, Newcastle disease virus, chicken embryo, antiviral effect

病毒性疾病是目前国内外影响畜牧业发展的主要传染病, 但是病毒性疾病尚无特别有效的治疗办法^[1]。麻杏石甘汤是有效治疗肺热性咳嗽的古方, 据不少学者研究发现有较强的抗菌和抗病毒作用。本试验对配方中药物不同剂量配比, 加以比较, 分析其中主要发挥抗病毒功用的药物, 为病毒性疾病的治疗和预防提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 试验时间、地点

试验于2007年3月~6月在河南工业大学动物生理实验室进行。

1.2 试验材料

麻杏石甘汤: 由麻黄、杏仁、甘草、石膏4味中药组成, 均购自郑州市河南医药大楼。

第一作者简介: 崔澜澜, 女, 1983年出生, 河南人, 在读硕士研究生, 研究方向为动物营养与饲料科学。通信地址: 450002 河南省郑州市河南工业大学莲花街校区生物工程学院 1208#。E-mail: cuilanlan0616@163.com。

通讯作者: 张慧茹, 女, 1967年出生, 新疆人, 博士, 副教授, 硕士研究生导师, 研究方向为中草药抗病毒添加剂。通信地址: 450002 河南省郑州市河南工业大学莲花街校区生物工程学院。E-mail: zhr67@163.com。

收稿日期: 2008-04-23, **修回日期:** 2008-05-20。

新城疫 Lasota 病毒:由河南农业大学赠送。

9~11 日龄的 SPF 鸡胚:来自乾元浩生物股份有限公司郑州生物药厂。

1.3 主要仪器

净化工作台:SW-CJ-1F 型单人双面,苏州净化设备有限公司

旋转蒸发器:RE-52AA 型,上海亚荣生化仪器厂

台式离心机:TSL-60B 型,上海安亭科学仪器厂

恒温培养箱:PHX-150H 型,宁波莱福科技有限公司

1.4 试验方法

(1)麻杏石甘汤的药液制备:参考资料^[2,3]中的研究方法,将麻杏石甘汤的 4 味中药变化比例成 8 种不同的组方,见表 1。采用煎煮提取方法制备成 1g/ml 的浓缩水煎提取液。

表 1 麻杏石甘汤的 8 种配方

试验号	麻黄/g	杏仁/g	甘草/g	石膏/g
1	4	3	2	8
2	4.5	4.5	3	9
3	2.5	4.5	3	9
4	4.5	4.5	3	12
5	3	4.5	2.25	9
6	6	4.5	3	9
7	6	4.5	3	12
8	2.6	4.5	1.35	5.2

(2)测定提取药液对鸡胚的最低致死浓度:采用鸡胚尿囊腔接种的方法,8 种药液以 1g/ml 的浓度、0.2ml/ 枚注入鸡胚,37℃ 恒温培养箱培养 24~72h,观察药液对鸡胚的最低致死浓度。

(3) 测定最低致死浓度的药液对鸡红细胞的凝集滴度:通过血凝试验测定药液对红细胞的凝集作用。取 1g/ml 浓度的药液,按血凝试验操作方式稀释,加入红细胞,测定药物对红细胞产生凝集作用的最大稀释浓度即为药液的血凝效价。

(4)测定药液抗病毒的效果:将药液与已检测毒力的病毒进行 1:1 等量混合,置 37℃ 恒温培养箱 2h 后,通过鸡胚尿囊腔接种注入鸡胚,培养 24~72h,弃去 24h 内死亡的鸡胚,72h 后收取鸡胚尿囊液进行新城疫毒力检测^[4,5]。以同浓度鸡新城疫病毒接种鸡胚增殖的病毒血凝效价作为阳性对照。

(5) 检测提取液体外血凝特性对抗病毒作用的影响:分别按红细胞凝集效价稀释提取液,体外与病毒直接作用 2h 后注入鸡胚,进行恒温培养,病毒检测方法同步步骤 4。

2 结果与分析

2.1 药物对鸡胚的毒性作用

经观察发现:注入药液的鸡胚全部成活,没有死亡。说明不同药物比例的麻杏石甘汤组方对鸡胚没有毒性,药液对鸡胚的最小致死量大于 1g/ml。

2.2 药液对红细胞的凝集作用

将各提取液按操作方法体外测定其血凝效价。结果见表 2。从表中可以看出有 7 种配方在体外对鸡红

细胞有凝集作用,配方 3 对鸡红细胞没有凝集作用。结合表 1 的各种成分比例对照可以看出:麻黄和石膏的用量多少与血凝效价高低有关。麻黄含量的多少是引起血凝的主要因素,石膏具有降低体外血凝的作用,而且,麻黄的血凝作用强于石膏的降低血凝作用,两者发挥作用的详细机理还有待于进一步研究。

表 2 提取液对红细胞的体外血凝效价

药液	血凝效价平均值
配方 (1)	1:4
配方 (2)	1:4
配方 (3)	0
配方 (4)	1:2
配方 (5)	1:2
配方 (6)	1:128
配方 (7)	1:32
配方 (8)	1:4

注:血凝效价为零的表示无血凝现象出现。

2.3 药物对鸡新城疫病毒的抑制作用

通过血凝试验测定不同提取液新城疫病毒的效价,结果见表 3。从表中可以看出 8 种配方的血凝效价均比病毒阳性对照的滴度低,说明药物均有抑制病毒的作用。其中,配方 (6)、(7)的滴度最低,其抗病毒作用高于药液 (1)、(2)、(4),也高于药液 (3)、(5)、(8)。结合表 1 的药物比例对照分析,证实麻黄含量的高低是影响抑杀病毒的主要因素。

2.4 稀释后的药液对鸡新城疫病毒的作用

对 8 种配方选择体外血凝效价的倍数(体外血凝效

表 3 不同提取液抗 NDV 的活性研究

	血凝效价平均值
配方 (1)	1:64
配方 (2)	1:64
配方 (3)	1:128
配方 (4)	1:64
配方 (5)	1:128
配方 (6)	1:32
配方 (7)	1:32
配方 (8)	1:128
病毒阳性对照	1:256

价见表 2) 进行稀释, 再按照试验方法 (4) 测定其抗病毒作用的变化。结果见表 4。从表中可以看出, 选择药液体外血凝效价倍数稀释的浓度与病毒作用, 产生的

病毒抑杀效应与原始药液浓度对病毒的抑杀作用相比, 药液的体外血凝效价与体内抗病毒能力没有明显的相关性, 排除了体外血凝效价影响抗病毒效果的可能性; 当然可以很明显看出, 稀释后的药液没有原药液对病毒的抵抗作用好, 说明药液的血凝滴度与药液的抗病毒效果无关。

2.5 麻黄抗病毒作用的分析

综合以上各表, 可以看出麻黄是抗病毒的主要物质, 其抗病毒作用于其含量相关, 见表 5。从 H 列可以看出: 抗病毒作用强弱的排列随麻黄含量变化, 配方 (8)、(5) 小于配方 (1)、(2)、(3)、(4)、(6)、(7), 从 Y 列可以看出: 抗病毒作用的强弱随麻黄含量变化是配方 (8)、(5)、(3) 小于配方 (1)、(2)、(4), 小于配方 (6)、(7), 有一定的排序性。

表 4 稀释后的药液抗鸡新城疫病毒的血凝效价

	药液的稀释度	血凝效价平均值
配方 (1)	4	1:128
配方 (2)	4	1:128
配方 (3)	1	1:128
配方 (4)	2	1:128
配方 (5)	2	1:256
配方 (6)	128	1:128
配方 (7)	32	1:128
配方 (8)	4	1:256
病毒阳性对照		1:256

表 5 麻黄抑制病毒的作用对照

	麻黄含量	相对比例/%	稀释后病毒效价 H	原药液的病毒效价 Y
配方 (3)	2.5	13	1:128	1:128
配方 (5)	3	16	1:256	1:128
配方 (8)	2.6	19	1:256	1:128
配方 (4)	4.5	19	1:128	1:64
配方 (2)	4.5	21	1:128	1:64
配方 (1)	4	24	1:128	1:64
配方 (7)	6	24	1:128	1:32
配方 (6)	6	27	1:128	1:32
病毒阳性对照			1:256	1:256

3 讨论

3.1 目前对麻杏甘石汤的研究有很多报道。卢芳国等发现麻杏石甘汤的加味可以促进感染 A 型流感病毒的小鼠分泌 IF-X^[6]; 马以泉等^[7]对麻杏甘石汤药理作用研究, 指出此方具有较好的解热、抗炎、镇咳、抑菌和抗病毒作用。这些报道是在复方加减单味药的基础上来研究, 本试验是在已有疗效的复方基础上、相同试验条件下, 对抗病毒效果及主要成分加以分析、比较。

3.2 本试验虽然也采取常规的煎煮方法, 但在煎煮顺

序上进行改进, 根据麻杏石甘汤中几味药的主要成分, 先煎麻黄, 后下其它 3 味药, 经试验证实这种方法有利于麻黄生物碱和苦杏仁甙的煎出。

3.3 麻黄中所含的生物碱和挥发油是其抗病毒的有效物质。麻黄碱(Ephedrine)、伪麻黄碱(Pseudoephedrine)可解除支气管痉挛, 松弛支气管平滑肌, 作用较缓而持久。从试验可以看出配方 (6) 和 (7) 有较好的抗病毒作用, 2 个配方麻黄含量相通、比例较高, 但石膏量不相同, 相差 3g; 麻杏石甘汤配方 1、2、4 的抗病毒效果近

似,麻黄含量稍有不同、比例有些差别,但配方 2 和 4 的石膏量不相同,相差 3g;配方 3、5、8 的抗病毒效果近似。配方 2 和 3 相比较,配方 3 的麻黄量少,其它 3 味药一样;配方 2 和 6 相比较,配方 2 的麻黄量少,其他一样;可以得出麻黄在抗病毒方面有重要作用,随着麻黄的含量抗病毒作用增强。

3.4 试验过程中发现提取的药液体外有血凝现象,这种试验现象尚未见到相关的报道,虽然经测定药物的体外血凝效价与药物的抗病毒作用相关性不大,可能由于体内血液循环、免疫系统及其它因素参与作用消除,具体原因和机理有待进一步研究。

参考文献

- [1] 史秋梅,沈萍,陈丽凤,何永伟.筛选抗病毒中草药的研究[J].中国中药杂志,1996,78-81.
- [2] 马振亚.中药抗病毒抗菌作用研究[M].中国医药科技出版社,2005:7.
- [3] 孔素婷,周建功.浅谈中药煎煮方法与疗效[J].河南中医,2004,4(2):27.
- [4] 周德庆.微生物学实验教程[M],高等教育出版社,2005:310.
- [5] 王子轼.动物防疫与检测技术[M].中国农业出版社,2006:159-161.
- [6] 卢芳国.麻杏甘石汤的加味方对 A 型流感病毒感染小鼠免疫功能的影响[J].中医药学报,2005,37-38.
- [7] 马以泉.对麻杏甘石汤药理作用研究[J].药物研究,2005,4:32-33.