



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101317904 B

(45) 授权公告日 2011.02.09

(21) 申请号 200710100282.2

药》. 1995, 第 26 卷 (第 2 期),

(22) 申请日 2007.06.07

审查员 张贵峰

(73) 专利权人 何诚

地址 100094 北京市海淀区罗庄西里 11  
号-0308 室

(72) 发明人 何诚 斯建勇 张发明 李应超

(74) 专利代理机构 北京科龙寰宇知识产权代理  
有限责任公司 11139

代理人 孙皓晨

(51) Int. Cl.

A61K 36/736 (2006.01)

A61P 31/00 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

A61P 31/12 (2006.01)

A61K 131/00 (2006.01)

(56) 对比文件

沈红梅等. 乌梅的化学成分研究. 《中草

权利要求书 1 页 说明书 8 页

(54) 发明名称

乌梅提取物在制备抗畜禽病毒药物中的用途

(57) 摘要

本发明公开了乌梅提取物或有效部位 (I、II 和 III) 在预防和治疗畜禽病毒性、细菌性、支原体、衣原体疾病中的用途。体内和体外试验表明, 乌梅提取物或有效部位 (I、II 和 III) 具有预防和抑制家禽流感病毒、新城疫病毒、传染性支气管炎病毒等作用, 同时可有效杀灭引起动物致病的细菌, 例如: 牛无乳链球菌、牛金色葡萄球菌、牛大肠杆菌、鸡大肠杆菌等细菌。此外, 乌梅提取物或有效部位可有效预防和治疗家禽衣原体病、支原体病。

1. 乌梅提取物或有效部位在制备抗畜禽病毒药物中的用途,其中所述的畜禽病毒是禽流感病毒或新城疫病毒,所述的乌梅提取物或有效部位按照以下方法制备得到,包括:

(1) 将乌梅粉碎后过筛,筛过物加水浸泡,水煎煮提取,提取液过滤,将滤液浓缩,得浓缩液;

(2) 将浓缩液用乙酸乙酯浸泡萃取,收取滤液,回收乙酸乙酯,得到乌梅提取物;

(3) 将乌梅提取物用甲醇溶解后,重量/重量 1-1.5 倍,再与硅胶混合,自然凉干,上硅胶柱,依次使用下述三种洗脱液洗脱:100%氯仿洗脱液、90%氯仿洗脱液即氯仿:甲醇=9:1,80%氯仿洗脱液即氯仿:甲醇=8:2,收集 100%氯仿洗脱液洗脱部分得到乌梅有效成分 I;收集 90%氯仿洗脱液洗脱部分得到乌梅有效成分 II;收集 80%氯仿洗脱液洗脱部分得到乌梅有效成分 III;

所述的乌梅有效部位包括有效部位 I、II 或 III。

2. 按照权利要求 1 的用途,其特征在于:所述的禽流感病毒是 H9N2 亚型或 H5N1 亚型禽流感病毒;所述的新城疫病毒是 F48E8 型。

3. 按照权利要求 1 的用途,其特征在于:步骤(1)中将乌梅粉碎后过 10 目筛,筛过物加 4-5 倍重量水浸泡,水煎煮提取 3 次,每次 2-6 小时,收集三次提取液过滤,将滤液浓缩至乌梅提取原料重量的 1-1.5 倍,得浓缩液。

4. 按照权利要求 1 的用途,其特征在于:步骤(2)中,将浓缩液用 3-6 倍重量的乙酸乙酯浸泡萃取,连续浸泡 5-10 次,收取滤液,回收乙酸乙酯,得到乌梅提取物。

## 乌梅提取物在制备抗畜禽病毒药物中的用途

### 技术领域

[0001] 本发明涉及乌梅提取物的一种新的医药用途,尤其涉及乌梅提取物在抗畜禽病毒、细菌病中的用途,属于生物医药领域。

[0002] 背景技术

[0003] 进入 21 世纪以来, 畜禽重大疫病在全球不断爆发, 不仅严重地阻碍了畜牧业的健康发展, 也引起了一系列的公共卫生突发事件, 我国也未能幸免, 先后发生禽流感、猪链球菌病、口蹄疫等重大疫情, 给人民健康、社会安定造成了极大的危害。因此, 研究和创制生物兽药新产品, 已成为保障我国畜牧业发展、维护人民的健康和生命安全、保持社会稳定和促进经济发展的国家重大需求。

[0004] 乌梅 (*Fuctus Mume*) 是由蔷薇科植物梅 (*Prunus mume* (Sieb.) Sieb. et Zucc. (*Armeniaca mume* Sieb.)) 干燥未成熟果实加工而成。别名有梅实、熏梅、桔梅肉。全国各地都有栽培, 主要产于我国四川、浙江、福建、湖南、贵州。该植物味酸、性涩、平, 具有敛肺止咳、涩肠止泻、固崩止血、生津止渴、安蛔等功效。主要用于治疗久咳、虚热烦渴、久疟、久泻, 痢疾、尿血、血崩、钩虫病等。体外筛选发现乌梅对多种致病菌有抑制作用, 如痢疾杆菌、大肠杆菌、伤寒、副伤寒杆菌、百日咳杆菌、脑膜炎双球菌。也有报道对结核杆菌抑制作用, 还对某些致病性真菌有抑制作用, 但应用于动物和人的疗效没有报道。乌梅的水提取液、醇提取液对肿瘤细胞有一定的抑制生长效应, 且呈量效关系。目前乌梅主要用于治疗蛔虫和消化不良等效果较好。

[0005] 2005 年农业部发文规定禁止把人类使用的广谱药物 (病毒灵、金刚烷胺、金刚乙胺、阿昔洛韦) 应用到畜禽药物中, 防止抗病毒药物耐药性从畜禽向人类传递, 但是, 我国某些传染性疾病仍缺乏有效的疫苗来控制 (如呼吸繁殖综合症、猪心肌炎、猪无名高热等), 开发有效药物来预防这些疾病的途径。畜禽生产中支原体、衣原体、大肠杆菌等广泛流行, 控制这些细菌病主要依赖抗菌素治疗。由于抗菌素的滥用、耐药性出现, 导致细菌性传染病预防和治疗难度加大。同时药物残留也威胁人类食品安全和身体健康。

[0006] 开发天然中草药预防畜禽疾病是国家中药创新体系的组成部分, 符合高效、毒性小、副作用少的国家产业结构调整方向, 顺应绿色、环保的基本生产要求, 产品的推广和应用可以解决抗生素药物残留、部分替代抗菌素, 控制畜禽重大疫病流行和发生, 提高我国畜禽产品出口的竞争力。

### 发明内容

[0007] 本发明所要解决的技术问题是提供一种新的能够有效预防和治疗畜禽病毒病、支原体病、衣原体病的植物药。

[0008] 为了解决上述问题, 本发明人通过了大量的实验室和临床验证, 发现乌梅提取物或有效部位具有抗病毒活性和广谱抗细菌活性, 有效防治畜禽禽流感、支原体和禽大肠杆菌, 牛大肠杆菌可代替抗菌素治疗家禽顽固性呼吸道疾病, 从而有效提高家禽的成活率。同时可抑制猪心肌炎病毒在细胞上的增殖, 显示了广谱抗病毒效果。

[0009] 更具体来说,乌梅提取物或有效部位(I、II或III)具有预防和抑制家禽流感病毒、新城疫病毒、传染性支气管炎病毒等作用,同时可有效杀灭引起动物致病菌,例如:牛无乳链球菌、牛金色葡萄球菌、牛大肠杆菌、鸡大肠杆菌等细菌。此外,本发明还发现乌梅提取物可有效预防和治疗家禽衣原体病和支原体病。

[0010] 本发明分别通过体外、体内试验并将病毒和细菌结合起来,评价乌梅提取物和有效部位的抗病毒和细菌的功效。发现乌梅提取物或有效部位(I、II或III)具有抑制病毒增殖的作用,如禽流感(H9N2、H5N1亚型)、新城疫(F48E8)、传染性支气管炎(M41);乌梅提取物或有效部位可有效抑制下列细菌:鸡支原体、鸡衣原体、鸡大肠杆菌、牛大肠杆菌、牛无乳链球菌和牛金黄色葡萄球菌。体内试验表明:连续口服4天后,乌梅提取物能抵抗禽流感、新城疫的攻击,同时具有治疗大肠杆菌、支原体混合感染的作用。

[0011] 将乌梅提取物或有效部位(I、II或III)应用于北京延庆县康庄肉鸡饲养协会、河北省丰润养鸡场、高碑店市种鸡孵化场等三家鸡场进行临床试验。结果表明乌梅提取物或有效部位(I、II或III)对禽流感、新城疫、鸡传染性支气管、鸡大肠杆菌、鸡衣原体病均有良好的预防和治疗效果。

[0012] 乌梅提取物应用于预防和治疗小鼠禽流感模型,结果显示预防和治理禽流感具有良好的效果。

[0013] 本发明所述的乌梅提取物或有效部位可按照现有技术所公开的各种方法提取得到,例如可参考下述文献制备得到:沈红梅等,乌梅的化学成分研究,中草药,1995年第26卷第2期。

[0014] 作为优选的,本发明所述的乌梅提取物或有效部位I、II和III按照以下方法制备得到:

[0015] (1) 将乌梅粉碎后过筛,筛过物加水浸泡,水煎煮提取,提取液过滤,将滤液浓缩,得浓缩液;

[0016] (2) 将浓缩液用乙酸乙酯浸泡萃取,收取滤液,回收乙酸乙酯,得到乌梅提取物;

[0017] (3) 将乌梅提取物用甲醇溶解后,1-1.5倍(重量/重量)再与硅胶混合,自然凉干,上硅胶柱,依次使用下述三种洗脱液洗脱:100%氯仿洗脱液、90%氯仿洗脱液(氯仿:甲醇=9:1)、80%氯仿洗脱液(氯仿:甲醇=8:2),收集100%氯仿洗脱液洗脱部分得到乌梅有效成分I;收集90%氯仿洗脱液洗脱部分得到乌梅有效成分II;收集80%氯仿洗脱液洗脱部分得到乌梅有效成分III。

[0018] 上述方法中,优选的,步骤(1)将乌梅粉碎后过10目筛,筛过物加4-5倍重量水浸泡,水煎煮提取三次,每次2-6小时,收集三次提取液过滤,将滤液浓缩至乌梅提取原料重量的1-1.5倍,得浓缩液;

[0019] 步骤(2)中,优选的,将浓缩液用3-6倍重量的乙酸乙酯浸泡萃取,连续浸泡5-10次,收取滤液,回收乙酸乙酯,得到乌梅提取物;

[0020] 按照上述方法所制备得到的乌梅提取物或有效部位I、II和III,与按照现有方法所得到的乌梅提取物或有效部位相比,主要具有以下几方面的优点:有效成分的含量更高,所含的杂质更低;产物的收率有明显提高;有效成分的各组成比例有显著改变,对于畜禽病毒、细菌、支原体或衣原体具有更好的治疗或预防效果。

[0021] 乌梅提取物可以广泛应用于养禽业、养猪业、养牛业,部分替代抗病毒药物,弥补

我国目前疫苗预防效果不良造成的损失,替代耐药抗菌素防治畜禽细菌病,控制传染病的流行和解决食品抗菌素残留和保证食品安全,提高保证动物产品出口的竞争力。

[0022] 乌梅提取物按 50-500 毫克 / 公斤体重或有效部位按 5-200 毫克 / 公斤可通过口服、非肠道或局部途径给药,加入常规的辅料或载体或,可以按照本领域的常规制剂方法制备成口服制剂、注射剂等,例如,可以是片剂、颗粒剂、口服液、注射剂、冻干粉针剂等,优选为口服液或注射剂。

### 具体实施方式

[0023] 以下通过具体实施方式对本发明进行进一步说明。这里想要指出的是,下面的具体实施方式仅用来说明本发明,本领域技术人员在理解本发明精神的前提下,可以根据本技术领域的现有技术和公知知识对本发明进行相应变换,这些技术方案均落入本发明的范围之内。

[0024] 实施例 1 乌梅提取物或有效部位的制备

[0025] 将乌梅 1kg 粉碎,然后过 10 目筛,筛过物加水 4-5 公斤浸泡,水煎煮 3 次,每次 2-6 小时,收集 3 次滤液后,浓缩为 1-1.5 公斤,后使用乙酸乙酯 3-6 倍量浸泡,连续浸泡 5-10 次,收取滤液,回收乙酸乙酯,得到乌梅提取物;

[0026] 将乌梅提取物使用甲醇溶解后,1-1.5 倍(重量/重量)再与硅胶混合,自然凉干,上硅胶柱,依次使用 100%氯仿、90%氯仿(氯仿/甲醇=9:1)、80%氯仿(氯仿/甲醇=8:2)、氯仿/甲醇(2:1)、氯仿/甲醇(1:1)、氯仿/甲醇(1:1)/1%甲酸、氯仿/甲醇(1:2)/1%甲酸;收集 100%氯仿洗脱部分,得到有效成分 I;收集 90%氯仿洗脱部分,得到有效成分 II;收集 80%氯仿洗脱部分,得到有效成分 III。

[0027] 乌梅水提取物为深褐色物质,其乙醇溶液的 pH 为 2-5。

[0028] 碘显色:取乌梅提取物约 0.1g,用 1ml 甲醇溶解,用毛细管点在薄层色谱板,放置碘缸后显黄色。

[0029] 硫酸-乙醇反应:配制成 10%硫酸乙醇溶液。取乌梅提取物,用甲醇溶解,用毛细管点在薄层色谱板,用喷雾器喷洒 10%硫酸溶液试剂,然后用电吹风加热,显黑色。

[0030] 薄层层析(TLC)检查:取乌梅提取物少许,点在硅胶板上,显示至少 6 个荧光斑点。展开剂:三氯甲烷:甲醇=9:1。

[0031] 实施例 2 乌梅提取物颗粒剂和口服液的制备

[0032] 将 100g 乌梅提取物用 95%的 500ml 乙醇溶解,加入聚丙烯酸钠 20g、羧甲基纤维素钠 20g 和糊精 1200g。再加入药用淀粉 660g,按照常规的方法制成颗粒剂 2000g。

[0033] 实施例 3 乌梅提取物口服液的制备

[0034] 将 100g 乌梅提取物用 95%的乙醇 500ml 乙醇溶解,用 100 目滤布进行过滤,加入羧甲基纤维素钠 100g,混合均匀,用水稀释至 2000ML 分装成口服液 100ML/瓶。

[0035] 试验例 1 乌梅提取物对细菌性乳腺炎、禽大肠杆菌抑制作用

[0036] 使用灭菌生理盐水将实施例 1 所制备的乌梅提取物分别稀释成浓度为 100mg/ml、50mg/ml、25mg/ml、12.5mg/ml、6.25mg/ml、3.25mg/ml、1.62mg/ml 的稀释液,分别与牛大肠杆菌、牛无乳链球菌、牛金色葡萄球菌、鸡大肠杆菌作用,培养 48 小时,观察到乌梅提取物抑制细菌生长的最低浓度分别为 25.0mg/ml,12.5mg/ml,12.5mg/ml 和 18.7mg/ml。有效部

位 I、有效部位 II 和有效部位 III 分别稀释为 6.25mg/ml、3.2mg/ml、1.6mg/ml、0.8mg/ml、0.4mg/ml,测定获得抑制细菌浓度分别为见表 1。

[0037] 表 1 乌梅提取物及有效部位体外杀灭细菌最低有效浓度

[0038]

细菌种类	100%抑制微生物浓度 (mg/mL)			
	提取物	有效部位 I	有效部位 IV	有效部位 V
牛大肠杆菌	25.0	1.6	1.6	1.8
牛无乳链球菌	12.5	0.8	1.0	0.8
牛金色葡萄球菌	12.5	0.8	0.6	1.0
鸡大肠杆菌	18.7	3.5	2.0	1.5

[0039] 试验例 2 乌梅提取物对禽流感病毒增殖的抑制作用

[0040] 一、乌梅提取物对 SPF 鸡胚最大无毒浓度的测定

[0041] 将实施例 1 所制备的乌梅提取物用生理盐水分别稀释为 60mg/mL、20mg/mL、10mg/mL、5mg/mL、2.5mg/mL 和 1.25mg/mL,然后经尿囊腔接种于生长良好的 10d 鸡胚,每个稀释度分别接种 5 枚鸡胚,0.2mL/胚,对照组鸡胚同法接种等剂量的生理盐水。弃取 24h 内死亡的鸡胚,连续观察 6d 观察,以不出现死亡和鸡胚体病变为该药对鸡胚的无毒浓度。使用灭菌生理盐水稀释的乌梅提取物(每毫升含 60、50、40、20、10、5 和 2.5mg)尿囊腔接种鸡胚,连续观察 6d,每组的 5 枚鸡胚全部存活,发育健康,说明乌梅提取物各稀释度对鸡胚在观察时间内无毒性作用。

[0042] 二、乌梅提取物(实施例 1 所制备)对禽流感(H9N2 亚型、禽流感 H5N1 亚型)病毒抑制作用

[0043] 用前使用鸡胚复壮,测定病毒对 SPF 鸡胚半数致死量分别为  $10^{8.8} \text{ELD}_{50}$  和  $10^{6.2} \text{ELD}_{50}$ 。10d SPF 鸡胚购自北京梅里亚维通达实验动物公司。

[0044] 分别将 50、25、12.5、6.25、3.25、1.62mg/ml 乌梅提取物与禽流感 H9N2 亚型病毒分别接种 SPF 鸡胚,试验组鸡胚全部存活,其尿囊液血凝集效价阴性,对照组 H9N2 亚型病毒 50%死亡。将乌梅提取物 12.5、6.25、3.25、1.62、0.81、0.41、0.20mg/ml 上述剂量药物与禽流感 H5N1 亚型分别接种 SPF 鸡胚后,12.5、6.25、3.25、1.62、0.81mg/ml 全部保护 SPF 鸡胚存活,0.41mg/ml 可以获得 86%保护,0.20mg/ml 获得 50%保护。

[0045] 试验例 3 乌梅提取物预防鸡、小鼠禽流感的作用

[0046] SPF 鸡、BALB/C 小鼠饲养在生物安全 3 级实验室的隔离器中,饲料和饮水经过高压灭菌。乌梅提取物(实施例 1 所制备)、达菲、金刚烷胺分别按 100、1、1.5mg/kg 口服,每日二次,4 天后经过鼻腔接种禽流感病毒 0.1ml,连续观察 SPF 鸡、小鼠存活时间和临床症状,并统计其成活率和死亡率。试验结束后,剩余动物使用安乐死处理,剖检组织器官,观察不同组织器官的病理变化,测定其肺脏病变指数。试验结果显示乌梅提取物、达菲、金刚烷胺的提取物保护率分别为 80.0%、85.0%、70.0%;肺脏出血病变指数 6.6、3.3、33.3。小鼠成活率分别为 87.7、90.0 和 75.0,肺脏病变指数为 0.84、0.77 和 1.92(表 2)。

[0047] 表 2 乌梅提取物预防禽流感动物模型效果

[0048]

药物/剂量	乌梅提取物 (100mg/kg)	达菲 (1mg/kg)	金刚脲胺 (1.5mg/kg)
SPF 鸡成活率 (%)	80.0	85.0	70.0
SPF 鸡肺出血面积指数	6.6	3.3	33.3
小鼠成活率 (%)	87.7	90.0	75.0
小鼠肺病变指数(100%)	0.84	0.77	1.92

[0049] 注:肺脏出血面积指数 = 双侧肺脏出血面积投影 / 肺脏面积 \* 100 ; 肺脏病变指数 = 肺脏质量 / 体重 \* 100

[0050] 试验例 4 乌梅提取物对预防家禽慢性呼吸道病与大肠杆菌混合感染的作用

[0051] 将乌梅提取物(实施例 1 所制备)配制成浓度为 100mg/mL 口服液体,给临床诊断为慢性呼吸道病并发大肠杆菌病的肉鸡连续口服 4 天(剂量为 100mg/kg 体重),同时以新强霉素(新霉素、强力霉素,剂量为 10mg/kg)口服 4 天做对照。结果表明乌梅治愈率为 95%,新强力霉素为 80%(治愈率 = 治疗前发病数 - 治疗后发病数 / 剩余鸡只),且乌梅组肉鸡肺脏、气囊病变指数明显低于对照组。

[0052] 试验例 5 乌梅提取物对预防肉鸡衣原体感染的作用

[0053] 选择临床感染衣原体肉鸡分成 5 组,其中试验组 3 组,红霉素治疗对照组和空白对照组。乌梅提取物(实施例 1 所制备)试验组分别按高(100mg/kg 体重)、中(50mg/kg 体重)、低剂量组(25mg/kg 体重)口服肉鸡。结果表明按 100mg/kg 体重、50mg/kg 体重、25mg/kg 体重口服,肉鸡衣原体病治愈率分别为 90%、90%和 80%,红霉素对照组为 40%(表 3)。

[0054] 表 3 乌梅提取物对肉鸡衣原体治疗效果

[0055]

分组	鸡数量(只)	剂量(mg/kg)	治愈率(%)
高剂量组	10	100	90.0
中剂量组	10	50	90.0
低剂量组	10	25	80.0
红霉素组	20	10	40.0
空白对照组	50	-	20.0(2 只死亡)

[0056] 治愈率 = 治疗前发病鸡只 - 治疗后发病鸡只 / 试验鸡只数量

[0057] 试验例 6 乌梅提取物对鸡新城疫病毒保护作用

[0058] 选择 4 周龄 SPF 鸡分成 4 组,其中试验组 3 组,1 组为感染对照。将实施例 1 所制备的乌梅提取物试验组分别按高(750mg/kg 体重)、中(500mg/kg 体重)、低剂量组(250mg/kg 体重)连续口服 4 天,第 5 天继续口服,下午使用新城疫病毒 F48E28 株鼻腔接种。结果表明按上述三种剂量口服,SPF 鸡保护率分别为 80%、70%和 40%,病毒对照组为 0%(表 4)。

[0059] 表 4 乌梅提取物对 SPF 鸡新城疫病毒预防效果

[0060]

分组	鸡数量 (只)	剂量 (mg/kg)	成活率 (%)
高剂量组	10	750	80.0
中剂量组	10	500	70.0
低剂量组	10	250	40.0
病毒对照组	5	-	0.0

[0061] 试验例 7 乌梅提取物有效部位 I 对禽流感病毒保护作用

[0062] BALB/C 小鼠饲养在生物安全 3 级实验室的隔离器中。将乌梅有效部位 I (实施例 1 所制备) 分别按 50mg/kg、25mg/kg、10mg/kg 体重灌胃口服小鼠, 每天 1 次, 连续口服 4 天后, 鼻腔接种禽流感病毒 0.1ml, 继续口服有效部位 I 至第 5 天, 停药, 连续观察小鼠临床反应 10 天, 记录发病率、死亡数量。10 天后未死亡小鼠, 剖检测定肺脏质数。结果显示有效部位 I 保护率分别为 100%、90%、70%; 肺脏病变指数分别为 0.65、0.80 和 0.85; 肺脏病毒效价分别为 0、0 和 1.2 (表 5)。

[0063] 表 5 乌梅有效部位 I 预防禽流感小鼠模型效果

[0064]

有效部位剂量 (mg/kg)	小鼠数量	死亡数量	保护率 (%)	肺脏病变指数	病毒效价
50	10	0	100	0.65	0
25	10	1	90.0	0.80	0
10	10	3	70.0	0.85	1.2
病毒对照组	5	5	0.0	1.15	5.6

[0065] 试验例 7 乌梅提取物有效部位 II 对禽流感病毒保护作用

[0066] BALB/C 小鼠饲养在生物安全 3 级实验室的隔离器中。将乌梅有效部位 II (实施例 1 所制备) 分别按 50mg/kg、25mg/kg、10mg/kg 体重灌胃口服小鼠, 每天 1 次, 连续口服 4 天后, 鼻腔接种禽流感病毒 0.1ml, 继续口服有效部位 I 至第 5 天, 停药, 连续观察小鼠临床反应 10 天, 记录发病率、死亡数量。10 天后未死亡小鼠, 剖检测定肺脏质数。结果显示有效部位 II 保护率分别为 100%、100%、90%; 肺脏病变指数分别为 0.62、0.69 和 0.81; 肺脏病毒效价分别为 0、0 和 1.1 (表 6)。

[0067] 表 6 乌梅有效部位 II 预防禽流感小鼠模型效果

[0068]

有效部位剂量 (mg/kg)	小鼠数量	死亡数量	保护率 (%)	肺脏病变指数	病毒效价
50	10	0	100.0	0.62	0

[0069]



25	10	0	100.0	0.69	0
10	10	1	90.0	0.81	1.1
病毒对照组	5	5	0.0	1.10	6.0

[0070] 试验例 8 乌梅提取物有效部位 III 对禽流感病毒保护作用

[0071] BALB/C 小鼠饲养在生物安全 3 级实验室的隔离器中。将乌梅有效部位 III ( 实施例 1 所制备 ) 分别按 50mg/kg、25mg/kg、10mg/kg 体重灌胃口服小鼠, 每天 1 次, 连续口服 4 天后, 鼻腔接种禽流感病毒 0.1ml。继续口服有效部位至第 5 天, 停药, 连续观察小鼠反应 10 天, 观察指标同上。试验表明小鼠存活率分别为 100%、86%、80%; 肺脏病变指数分别为 0.70、0.85 和 0.90; 肺脏病毒效价分别为 0、1.2、1.5 ( 表 7 )。

[0072] 表 7 乌梅有效部位 III 预防禽流感小鼠模型效果

[0073]

有效部位剂量 (mg/kg)	小鼠数量	死亡数量	保护率 (%)	肺脏病变指数	病毒效价
50	10	0	100	0.70	0
25	10	1	86.0	0.85	1.2
10	10	3	80.0	0.90	1.5
病毒对照组	5	5	0.0	1.20	6.2

[0074] 对比试验例 1 不同方法制备的乌梅提取物预防禽流感效果试验

[0075] 方法 1 ( 本发明方法 ): 将乌梅 1kg 粉碎, 然后过 10 目筛, 每次用水 4 升, 煎煮 3 次, 合并滤液, 滤液加乙酸乙酯萃取, 得到乌梅提取物 70g。

[0076] 方法 2 ( 现有技术方法 ): 将乌梅 1kg 粉碎, 然后过 10 目筛。首先使用石油醚浸泡, 筛过物用石油醚提取。每次用石油醚 4 升, 提取 4 次, 合并提取液体。得到石油醚提取物 260g。然后使用乙酸乙酯萃取, 得到提取物 50g。

[0077] 方法 3 ( 沈红梅等, 乌梅的化学成分研究, 中草药, 1995 年第 26 卷第 2 期 ): 将乌梅 1kg 粉碎, 然后过 10 目筛。首先使用甲醇回流, 回收得到甲醇提取物, 然后使用滤液加乙酸乙酯萃取, 获得乌梅提取物 60g。

[0078] 将上述三种方法所提取得到的乌梅提取物分别按照相同的剂量口服 SPF 鸡 5 天, 试验结果见表 8, 观察其保护率分别为 70%、50% 和 60%。

[0079] 表 8 不同乌梅提取物对 SPF 鸡禽流感预防效果

[0080]

分组	鸡数量 ( 只 )	剂量 (mg/kg)	成活率 (%)
水煮+乙酸乙酯 ( 方法 1 )	10	500	70.0
石油醚+乙酸乙酯 ( 方法 2 )	10	500	50.0
甲醇+乙酸乙酯 ( 方法 3 )	10	500	60.0
病毒对照组	5	-	0.0

[0081]

[0082] 试验结果表明, 本发明方法所制备的乌梅提取物较现有方法所制备的乌梅提取

---

物,其预防鸡禽流感效果有显著提高。