

- 5 宋崇顺,等. 中药通报,1983,(4):34
- 6 金安萍. 中国中药杂志,1996,21(6):377
- 7 缪正秋,等. 中西医结合肝病杂志,1994,4(1):55
- 8 刘宝庆,等. 中草药,1984,(1):27
- 9 侯景贵,等. 中华内科杂志,1980,19(3):187
- 10 廖剑英. 云南医药,1993,14(3):188
- 11 武谦虎. 中医药研究,1990,(6):34,26
- 12 胡志华. 江苏医药,1991,17(8):426
- 13 朱天忠. 中国法医学杂志,1986,1(1):56
- 14 朱天忠. 中医药信息,1989,(1):12
- 15 张文芳. 实用中医药杂志,1997,13(2):41
- 16 牛建海. 新药与临床,1996,15(6):382
- 17 叶亲华. 中国中西医结合杂志,1996,16(12):73
- 18 郑咏梅. 实用医学杂志,1989,(2):34
- 19 刘丽萍,等. 新药与临床,1995,14(2):120
- 20 韦诗云. 中国中西医结合杂志,1994,14(9):539

(1999-04-06 收稿)

中草药抑制乙肝病毒(HBV)实验研究进展

温州医学院附属第一医院(325000) 叶 人*

摘 要 归纳出4种关于中草药抗HBV实验研究方法:1)体外直接抑制HBV实验;2)利用体外细胞培养系统进行抗HBV实验;3)在动物体内抑制HBV复制;4)通过调节免疫功能抑制HBV。设想采用血清药理学的方法研究中草药抗HBV作用,有可能避免不同的体外实验及其与临床相矛盾的结果。

关键词 中草药 抗乙肝病毒 实验研究

流行病学调查显示我国人群乙肝表面抗原(HBsAg)检出率达10%,慢性乙型肝炎(CHB)的流行率为0.1%~1%,由慢性肝炎发展为原发性肝癌的相对危险性高于200倍。我国是乙型肝炎高发区,近年来中草药已广泛应用于临床治疗CHB并取得一些疗效,笔者就国内近年来的实验研究情况做一综述。

1 体外直接抑制HBV作用

1.1 抑制HBV抗原作用:徐燕萍等^[1]从300种中草药中筛出抗HBsAg有效药物9种,按药效指数排列为半边莲、旋覆花、没食子、灯芯草、百蕊草、莲须、紫苏、铁扫帚、桑椹子。据报道重庆地区叶下珠与金钱草^[2],云南珠子草^[3],湛江、深圳、海南珠子草^[4]及复方制剂益肝片^[5],石榴皮水提液^[6]在体外均有明显抑制HBsAg作用。仲英等^[7]报道叶下珠经分离得11个化合物,其中1号与6号有较

强的抗HBsAg作用,6号为新化合物去氢诃子次酸甲酯。郑民实等^[8]从250种中草药中筛出抗HBeAg的有效药物7种,依次为丹参、皂荚、黄连、寻骨风、杜仲、藜芦和藕节;另报道没食子酸(从橄榄中提取)是实验室筛选出的抗HBsAg/HBeAg(乙型肝炎e抗原)有效药物^[9]。徐大文等^[10]报道苦味叶下珠对HBsAg、HBeAg抑制率分别为47.64%和49.09%,水提取物作用强于乙醇提取物。30%华佗消毒液^[11]和陕西叶下珠的甲、乙醇提取物^[12]均有较强的灭活HBV抗原作用,但进一步系统分离纯化乙醇提取物后显示其抗HBV活性下降,推测叶下珠灭活HBV抗原可能是多种成分的协同作用。有实验证明中草药中活性鞣质(多元酚类)含量与其抗HBV活性成正相关^[13]。

1.2 抑制HBV DNA作用:李文^[14]对100种中草药与13种制剂进行体外抑制HBV

* Address: Ye Ren, The First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Wenzhou

叶 人 女,1990年7月毕业于浙江中医学院中医系。大学本科,学士学位。职称:主治医师。1999年9月将重返母校读中西医结合治疗消化系统疾病专业硕士学位。目前正从事浙江省中医药管理局重点课题(中草药抗HBV)的实验研究工作。

DNA 实验,显示贯众、佩兰、荔枝核、珍珠菜、黄柏、茯苓、大黄、丹参、大活血和犁头草为高效药物,茵陈蒿汤与小承气汤为高效制剂。蒋锡源等^[15]对 50 种治疗肝炎中草药与制剂进行比较实验,显示板蓝根、虎杖、田基黄、大黄、茵陈、栀子 6 味中草药及含上述药物成分的 5 种注射液有显著抑制 HBV 抗原和 HBV DNA 作用,其所含化学单体成分如大黄酚(chrysophanol)、鞣苷等具显著抑制作用。

1.3 抑制 HBV DNAP 活性作用:米志宝等^[16]报道 21 种中草药中仅叶下珠提取物有较强的抑制作用,虎杖和旱莲草次之。石榴皮水提液^[6]与 30 % 华佗消毒液^[11]均有较强的抑制作用。

1.4 药物直接作用后 HBV 形态变化:电镜下随石榴皮水提液浓度增加,HBV 出现成团聚集、外壳缺失、核壳破裂等结构变化^[6]。30 % 华佗消毒液使 HBV 颗粒的三种完整形态与结构均被破坏,数量大为减少^[11]。

2 利用体外细胞培养系统筛选抗 HBV 中草药

2.1 利用 2.2.15 细胞株模型:板蓝根和银黄注射液在培养液中对 2.2.15 细胞的 HBsAg, HBeAg 表达有抑制作用,治疗指数分别为 6.43 和 11.63,作用机制和有效成分尚不清,推测板蓝根所含鞣苷有抗 HBV 抗原作用而黄芩与其抗逆转录酶活性有关^[17]。苦味叶下珠水提取物对 HBsAg, HBeAg 表达的抑制率分别达 64.58 % 和 39.17 %,且毒性作用很小,实验浓度明显低于体外直接作用浓度^[10]。乾坤宁和双黄连注射液、复方仙茅和复方黄芪浸膏水提液均为有效低毒药物,但复方黄芪浸膏水提液对 HBV DNA 无明显抑制作用,推测其作用于病毒的转录、翻译和蛋白合成等环节或直接与病毒蛋白结合而致 HBsAg, HBeAg 滴度下降^[18]。新疆中草药雪莲注射液、骆驼蓬水溶液有较强的抑制 HBsAg, HBeAg 和 HBV DNA 作用,呈剂量效应;复方一枝蒿能抑制 HBeAg 表达,对 HBsAg 和 HBV DNA 无效,可能与药物对

HBV 复制的作用位点不同有关^[19]。复方华蟾素口服液对 HBsAg, HBeAg 表达有较强的剂量依赖型抑制作用, TI (治疗指数) 值分别为 31.3 和 35.7; 并剂量依赖型抑制细胞内 HBV DNA 及复制中间体; 在同等剂量下, 对前者抑制作用强于后者, 提示该药抑制 HBV 不仅在转录前水平, 对 mRNA 翻译及蛋白分泌等环节也有影响, 有待进一步研究^[20]。复方乙肝散^[21] (由天王叶、白毛藤、五花血藤等组成)、纯草药方肝毒清^[22] 均能抑制 2.2.15 细胞表达 HBeAg, HBsAg 功能。肝康 (叶下珠复方制剂) 亦能明显地抑制 HBsAg, HBeAg 和 HBV DNA 表达^[23]。陈征途等^[24] 报道 8 种不同品种、产地叶下珠属植物分别具有抑制 HBsAg 或 HBeAg 或两项同时抑制作用 (TI > 2), 表明不同产地、品种叶下珠均有抑制 HBV 作用但因成分有异, 疗效也有别。

2.2 利用 PLC/PRF/5 细胞株模型: 纪徐准等^[25] 报道叶下珠能抑制 HBsAg 的表达, 其机制可能是对 HBsAg 合成的抑制及叶下珠某活性部位与 HBsAg 特异性结合的结果。

2.3 利用鸭肝细胞原代培养结合 2.2.15 细胞培养: 米志宝等^[16] 报道叶下珠对 DHBV DNA 和 HBsAg, HBeAg 表达均有较好的抑制效果。

3 在动物体内抑制 HBV 复制

采用鸭乙型肝炎动物模型: 张美义^[3] 报道云南珠子草有一定抗 DHBV 作用。米志宝等^[26] 对叶下珠、虎杖、五味子三药乙醇提取物抗 DHBV 作用进行评价, 显示三药均有不同程度抗 DHBV 作用, 叶下珠最强, 联合作用疗效优于单味药。华蟾素能明显抑制 DHBV 复制, 高剂量组鸭肝病理改善明显, 可能系大剂量华蟾素能有效地抑制 DHBV 复制而减轻鸭肝病理损害^[27]。陈压西等^[28] 用不同产地叶下珠及其联合苦参及环丙沙星抗 DHBV 实验表明: 广西、云南叶下珠能抑制 DHBV DNA, 云南叶下珠有停药后反跳现象; 重庆叶下珠无效; 广西叶下珠与苦参合用

无协同作用,与环丙沙星合用有增强抗 DHBV 作用,是否与喹诺酮类抑制 DNA 回旋酶而抑制 DNA 合成机制有关还待进一步探讨。

4 通过调节免疫功能抑制 HBV 作用

乙肝舒浸膏(由拳参、生大黄、茵陈等组成)对正常和泼尼松处理的 BALB/C 小鼠淋巴细胞增殖分别呈明显抑制和促进作用;对小鼠脾脏自然杀伤细胞活性有明显增强作用,对淋巴细胞 IL-2 生成有显著促进作用,说明该药能增强细胞和体液免疫功能而在抑制 HBV 中发挥作用^[29]。益肝片(由蚤休、虎杖、金钱草等组成)能使小鼠脾脏相对重量增加,抗体形成细胞明显增加,腹腔巨噬细胞吞噬百分数和吞噬指数明显提高,血清溶菌酶含量提高,提示该药能促进机体免疫功能而达到抗 HBV 作用^[5]。肝康也可以通过增强小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能和特异性抗体生成而达到抗 HBV 作用^[30]。

5 结语与展望

综上所述,从最早的对流免疫电泳筛选抗 HBsAg 中草药至 80 年代中后期采用反相被动血凝抑制试验(RPHI),发展到 90 年代将酶联免疫吸附检测(ELISA)技术用于抗 HBV 抗原的药效检测,特别是利用体外细胞培养系统实验,使中草药体外抗 HBV 实验又进一步完善。体外实验有操作简便、价廉、快速、可重复性,具有特异性与敏感性等优点,也有“体外”的缺陷:①药物直接加入反应体系,药物的杂质成分、各种电解质或鞣质成分、不同酸碱度均会影响实验结果,特别对体外培养细胞株实验影响更大。②药物在人体是经吸收、代谢而发挥作用,一些药物成分可能不被人体吸收、或经代谢而失活,一些成分

又因代谢而变为活性物质发挥作用,所以药物体外作用不能等同于体内作用。

用血清药理学方法进行中草药体外抗 HBV 实验研究未见报道,设想采用药物血清进行体外实验,可避免一些体内外实验及不同体外实验相矛盾的结论,使实验结果比较接近药物在体内环境中的抗 HBV 作用。此外中草药抗 HBV 作用机制及有效成分不清,限制了科学地评价中草药抗 HBV 作用和临床推广,这方面的研究工作有待进一步深入。

参考文献

- 1 徐燕萍,等. 江西中医学院学报,1995,7(1):20
- 2 周世文,等. 实用中西医结合杂志,1995,8(12):760
- 3 张美义,等. 中国中药杂志,1992,17(5):259
- 4 石 蕾,等. 新中医,1997,29(5):39
- 5 张英华,等. 中药新药与临床药理,1998,9(3):168
- 6 张 杰,等. 中药药理与临床,1997,13(4):29
- 7 仲 英,等. 中国中药杂志,1998,23(6):263
- 8 郑民实,等. 天然产物研究与开发,1995,7(1):10
- 9 郑民实,等. 实用中医药杂志,1998,14(1):5
- 10 徐大文,等. 天津医药,1994,(12):717
- 11 刘进先,等. 中药新药与临床药理,1996,7(2):27
- 12 贺浪冲,等. 西北药学杂志,1996,11(1):11
- 13 李荣芷,等. 北京医科大学学报,1994,26(2):134
- 14 李 文. 中医杂志,1997,38(1):46
- 15 蒋锡源,等. 现代应用药学,1992,9(5):208
- 16 米志宝,等. 中国中药杂志,1997,22(1):43
- 17 唐 红,等. 中华传染病杂志,1992,10(4):215
- 18 苑 涛,等. 中华实验和临床病毒学杂志,1996,10(1):27
- 19 张耀新,等. 中西医结合肝病杂志,1996,6(4):23
- 20 刘 庄,等. 中国中西医结合杂志,1996,16(12):738
- 21 程明亮,等. 中国医药学报,1997,12(3):23
- 22 彭齐荣,等. 中西医结合肝病杂志,1995,5(2):21
- 23 张均倡,等. 中国实验方剂学杂志,1998,4(4):18
- 24 陈征途,等. 中草药,1997,28(10):616
- 25 纪徐淮,等. 中国中药杂志,1993,18(8):496
- 26 米志宝,等. 中西医结合肝病杂志,1994,4(4):24
- 27 巫善明,等. 中华传染病杂志,1995,13(1):25
- 28 陈压西,等. 中国中西医结合杂志,1995,15(4):225
- 29 聂淑琴,等. 中国实验方剂学杂志,1997,3(2):35
- 30 张均倡,等. 中西医结合肝病杂志,1998,8(2):98

(1999-01-20 收稿)

2000 年《中国医学文摘-中医》征订启事

《中国医学文摘-中医》2000 年,双月刊,16 开本,64 页,国内定价 4.80 元,全国各地邮局均可订购,期刊代号 2-633;国外读者请向中国国际图书贸易总公司订购,国际期刊代号 BM299。地址:北京东直门内北新仓 18 号中国中医研究院中医药信息研究所 邮编:100700 电话:(010)64014411-3212