

脂素的毒性,且其毒性大小与鬼臼木脂素类成分的含量成正比^[5]。

3.2 5种样品对小鼠移植性肝癌均有抑制作用,以鞣八角莲提取物的抑瘤作用为最强,其次为桃儿七提取物,小叶莲提取物,鬼臼类中药乙醇提取物对小鼠移植性肝癌的抑制作用明显好于单体化合物(鬼臼毒素和去氧鬼臼毒素),且毒性较小,其作用效果可能为几种成分共同作用的结果。实验结果为开发利用鬼臼类中药药用资源,寻找高效低毒的抗肿瘤有效成分提供了依据。

3.3 各样品组对小鼠 EAC 均有一定的抑制作用,除小叶莲提取物外,其余 4 个样品的抑瘤率均大于

30%,且与对照组相比均有显著性差异 ($P < 0.05$),

参考文献:

- [1] 尚明英,李萍,蔡少青. 鞣八角莲的化学成分研究 [J]. 中草药, 2000, 31(6): 412-414.
- [2] 尚明英,李萍,李军,等. 藏药小叶莲的化学成分研究 [J]. 中草药, 2000, 31(8): 569-571.
- [3] 中国医学科学院药物研究所. 中药志(第一册) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1977.
- [4] Lbeti V, Donadio M, John D. Cisplatin and teniposide chemotherapy for advanced non-small cell lung cancer [J]. Eur J Cancer, 1991, 27(9): 1104-1106.
- [5] Patrick J, Loehrer S, Susan R, et al. Etoposide, ifosfamide and cisplatin in extensive small cell lung cancer [J]. Cancer, 1992, 69(3): 669-673.
- [6] 尚明英,徐国钧,徐路珊,等. HPLC法测定鬼臼类生药中鬼臼木脂素的含量 [J]. 中国药科大学学报, 1996, 27(4): 219-222.

牛蒡苷元体外抗流感病毒活性

高阳¹,董雪²,康廷国¹,赵长智²,黄智²,张效禹^{1*}

(1. 辽宁中医学院 中药系,辽宁 沈阳 110032; 2. 沈阳市卫生防疫站,辽宁 沈阳 110031)

摘要:目的 体外观察牛蒡苷元 (arctigenin, ACT) 抗甲 1 流感病毒作用,为进一步确认 ACT 是牛蒡子 *Fructus arctii* 解表功能有效成分提供实验依据。方法 采用 MDCK 细胞培养法,通过红细胞凝集实验,以流感病毒血凝滴度为指标,观察 ACT 对流感病毒复制的抑制作用。结果 ACT 浓度 (mmol/L) 为 6.7, 13.4, 26.8 和 53.6 的血凝滴度抑制率 (%) 分别为 0.75, 87.5 和 100。结论 ACT 在体外有直接抑制流感病毒复制的作用,是牛蒡子解表功能的有效成分,对其进行含量测定作为牛蒡子质量标准的定量指标是适宜和可行的。

关键词: ACT; 甲 1 流感病毒; MDCK 细胞; 血凝滴度

中图分类号: R286.87 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)08-0724-03

Activity of *in vitro* anti-influenza virus of arctigenin

GAO Yang¹, DONG Xue², KANG Ting-guo¹, ZHAO Chang-zhi², HUANG Zhi², ZHANG Xiao-yu¹

(1. Department of Chinese Materia Medica, Liaoning College of TCM, Shenyang 110032, China;

2. Shenyang Sanitation and Antiepidemic Station, Shenyang 110031, China)

Abstract Object To observe *in vitro* inhibitory activity of arctigenin (ACT) against influenza A1 virus in order to make further verification of that ACT is an active constituent of *Fructus Arctii* for relieving exterior syndrome. **Methods** Madin darby canin kidney (MDCK) cell culture techniques were used for evaluating antiviral activity of ACT by hemagglutination assay with the influenza virus hemagglutination titer as index and for investigating the inhibitory effect of ACT on replication of influenza virus. **Results** The inhibition rates (%) of hemagglutination titer were 0.75, 87.5, and 100 at the ACT concentrations (mmol/L) of 6.7, 13.4, 26.8 and 53.6, respectively. **Conclusion** ACT has directly *in vitro* inhibitory effect against influenza virus replication, and is an active constituent of *Fructus Arctii* for the relieving exterior syndrome. It is suitable and feasible to determine the quality control index as ACT content in *Fructus Arctii* to assess the quality of the herbal drug.

Key words arctigenin (ACT); influenza A1 virus; Madin darby canin kidney (MDCK) cell; hemagglutination titer

* 收稿日期: 2001-12-17

基金项目:“九五”国家重点科技攻关项目 (No. 96-903-02-01)

流感是由流感病毒引起的一种急性病毒性呼吸道传染病。现临床应用的抗流感病毒药多易损害宿主细胞,毒性较大和易导致耐药毒株出现。因此,研究新型抗流感病毒药物具有重要的现实意义。牛蒡子属辛凉解表药,具有疏散风热,宣肺透疹,解毒利咽的功效。牛蒡苷元(arctigenin, ACT)是从牛蒡子中提取的一种木脂素类成分。我们既往的实验结果表明:ACT对离体大鼠气管、结肠、肺动脉、胸主动脉及豚鼠气管有松弛作用,是由抑制细胞外钙内流和内钙释放引起^[1]。在此基础上,本文观察了ACT体外抗流感病毒作用,为进一步确认ACT是牛蒡子解表功能有效成分和开发应用提供实验依据。

1 材料

ACT自制,纯度为99.8%。临用时用DMEM溶液溶解,并加适量聚乙二醇400配制成4个浓度(mmol/L)6.7, 13.4, 26.8和53.6,所含聚乙二醇(%)分别为2.5, 5.0, 10.0和20.0,并调pH至7.2~7.4,经过滤除菌后冷存。

病毒唑注射液(山东兖州益健制药厂):临用时用DMEM溶液配制成4个浓度(mmol/L)1.6, 3.2, 6.4和12.8。

MDCK(Madin darby canin kidney)细胞,甲1流感病毒[A京防/262/95(H1N1)]购自中国预防医学科学院病毒所。

MDCK细胞生长液、细胞维持液、Versene溶液和消化液:按文献^[2]方法配制。

2 方法

2.1 MDCK细胞传代和流感病毒培养:按文献^[2]方法进行。

2.2 聚乙二醇及ACT对细胞毒性试验:将聚乙二醇用DMEM溶液配制成浓度(%)为2.5, 5.0,

10.0, 20.0及ACT如前配制后,加入已长成单层细胞的细胞板内0.1 mL孔,并加细胞维持液至1 mL孔,35℃、5% CO₂孵箱内培养72 h,观察细胞病变。同时设MDCK细胞对照。实验重复2次。结果表明:聚乙二醇及含聚乙二醇之ACT对MDCK细胞没有产生非特异性细胞病变(CPE)提示所用浓度聚乙二醇和ACT对MDCK细胞无毒性。

2.3 ACT抗流感病毒试验:如上所配各浓度ACT及病毒唑各0.2 mL,甲1流感病毒悬液0.2 mL,4℃条件下,静置2 h,加入已长成单层细胞的细胞板内吸附2 h,用Hank's液洗4遍,加入细胞维持液1 mL孔,置于35℃、5% CO₂孵箱内培养72 h。同时设MDCK细胞对照,甲1流感病毒对照,助溶剂聚乙二醇对照和阳性药病毒唑对照。选用适当血凝实验板,除第一孔外,每孔加25 μL生理盐水。第一孔加50 μL待测病毒悬液,取25 μL做2倍系列稀释,最后一孔弃去25 μL。每孔加25 μL 0.75%豚鼠红细胞悬液,轻弹实验板,使红细胞与病毒充分混合,置室温60 min后,观察血凝现象并记录结果。以出现“++”的流感病毒最高稀释度为血凝终点,该稀释度的倒数即为流感病毒的血凝滴度^[2],并按文献^[3]方法进行统计处理。

3 结果

结果见表1,可见聚乙二醇在所用浓度下对甲1流感病毒无毒性。ACT与病毒唑相似,低浓度时,对流感病毒无明显抑制作用,随浓度增高,抑制作用逐渐增强,高浓度时,已可完全抑制其复制,呈现明显的浓度依赖性。

4 讨论

近二十余年来,已经分离和合成了大量具有抗病毒活性的物质。但目前具有干扰病毒代谢而不损

表 1 ACT对甲 1流感病毒的抑制作用

组别	浓度 (mmol/L)	血凝滴度					血凝滴度 抑制率(%)
		1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	
MDCK细胞	-	-	-	-	-	-	-
甲1流感病毒	-	++++	++++	++++	++++	++++	0
聚乙二醇	2.5%	++++	++++	++++	++++	++++	0
	5%	++++	++++	++++	++++	++++	0
	10%	++++	++++	++++	++++	++++	0
	20%	++++	++++	++++	++++	++++	0
病毒唑	1.6	++++	++++	++++	++++	++++	0
	3.2	++++	++++	++++	++	-	50
	6.4	++++	++	-	-	-	87.5
	12.8	-	-	-	-	-	100
牛蒡苷元	6.7	++++	++++	++++	++++	++	0
	13.4	++++	++++	++	-	-	75
	26.8	++++	++	-	-	-	87.5
	53.6	-	-	-	-	-	100

害宿主细胞的高度选择性的抗病毒药物,且其临床疗效又较突出的为数很少。我国古代医书中早就有“疫”、“风寒”、“伤风”及“时行感冒”等记载。这些记载中可能有些指的就是流感或包括流感在内。呼吸道病毒感染属中医学“风温肺热病”范畴,其临床表现与“感冒、外感咳嗽、淫气喘息”等中医病名有关^[4]。近年来,“双黄连”等中药在治疗病毒感染疾病中取得了甚好的临床疗效。说明从中药宝库中寻找抗病毒药物是很有开发前景的。

由于组织培养法的实验条件较易控制,方法规范,因此我们采用 MDCK 细胞培养法进行 ACT 抗流感病毒作用的实验研究。结果提示:ACT 能直接抑制或灭活流感病毒,使其产生较强的体外抗甲 1 流感病毒作用。其通过何种方式和机制而抗甲 1 流感病毒及在体内的抗流感病毒活性如何,有待进一步研究和探讨。

牛蒡子提取物对 EBV,在浓度相同时有与已知强抗 EBV 药维甲酸相似的抑制作用^[5],尚有抗 HIV^[6]、抗细菌^[7]和真菌^[8]的作用。我们的另外实验研究结果证实:ACT 对多种细菌和真菌有较强的抑

制或杀灭作用(待发表)。ACT 能抗流感病毒等病原体,进一步为确认 ACT 是牛蒡子解表功能的有效成分,对其进行含量测定作为牛蒡子质量标准的定量指标提供了实验依据,为进行深入研究和开发应用奠定了基础。

参考文献:

- [1] Gao Y, Kang T G, Zhang X Y. Studies on calcium antagonist action of arctigenin. 中草药, 2000, 31(10): 758-762.
- [2] 郭元吉,程小雯. 流行性感冒病毒及其实验技术 [M]. 北京:中国三峡出版社, 1997.
- [3] 陈忠斌,王升启,朱宝珍,等. 硫代反义寡核苷酸在细胞培养内抗甲型流感病毒活性 [J]. 病毒学报, 1998, 14(3): 193-197.
- [4] 欧敏,杜怀堂,郭元吉,等. 清肺饮抗小鼠流感病毒性肺炎的实验研究 [J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 1996, 10(4): 381-384.
- [5] 陈铁宏,黄迪. 牛蒡子对 Epstein-Barr 病毒抗原表达的抑制作用 [J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 1994, 8(4): 323-327.
- [6] Yao X J, Mark A, Wainberg, *et al.* Mechanism of inhibition of HIV-1 infection in vitro by purified extract of *Prunella vulgaris* [J]. Virology, 1992, 187: 56-58.
- [7] Hasegawa M, Takeda S, Hosoya H, *et al.* Abstracts of the Pharmaceutical Society of Japan [M]. Sapporo, 1990.
- [8] 曹仁烈,孙在原,王仲德,等. 中药水浸剂在试管内抗皮肤真菌的观察 [J]. 中华皮肤科杂志, 1957, 5(4): 286-290.

调肝导浊中药对氧化修饰低密度脂蛋白含量影响的实验研究

张柏丽,陆一竹,范英昌*

(天津中医学院,天津 300193)

摘要:目的 探讨调肝导浊中药防治动脉粥样硬化(AS)的机制。方法 运用高脂血症小鼠模型和体外培养技术以不同培养基培养小鼠腹腔巨噬细胞和大鼠肝细胞,检测血清和细胞培养液中氧化修饰低密度脂蛋白(OX-LDL)。结果 调肝导浊中药可明显降低血清和细胞培养液中 OX-LDL 的含量并抑制 OX-LDL 生成。结论 调肝导浊中药通过降低、阻止 OX-LDL 形成而防止和延缓 AS 的发生。

关键词:调肝导浊中药;氧化修饰低密度脂蛋白;动脉粥样硬化;单核细胞;巨噬细胞

中图分类号: R286.26 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)08-0726-03

Effects of Chinese medicine TIAOGAN DAOZHUO* on content of oxidized low density lipoprotein

ZHANG Bai-li, LU Yi-zhu, FAN Ying-chang

(Tianjin College of TCM, Tianjin 300193, China)

Key words Chinese medicine TIAOGAN DAOZHUO; oxidized low density lipoprotein; atherosclerosis; mononuclear cell; macrophage

* TIAOGAN DAOZHUO is a Chinese herb prescription with the function of regulating the disorder of *qi* and removing turbid *qi*.

收稿日期: 2001-11-01

基金项目: 天津市自然科学基金资助项目(003607911)

作者简介: 张柏丽(1949-),女,天津中医学院生化教研室副教授,主要从事中药对脂代谢调控的研究。