

固醇 调节血脂和提高血清 SOD活性的药效作用, 这些作用对于治疗高脂血症、预防血管内皮损伤, 阻止血管粥样硬化的形成都有重要的意义。说明这两种化合物均为山楂降血脂的有效成分, 用以分析山楂质量是有药效学依据的。

参考文献:

- [1] 广州第四制药厂, 中山大学药用植物专业. 山楂对心血管系统药理作用的初步研究 [J]. 中草药通讯, 1997, (9): 31.
[2] 孙晓飞, 姚乾元. 山楂提出物对动物实验性高血脂的作用 [J].

山西中医, 1988, 4(9): 44-55.

- [3] 凌树森, 张菊, 孔维林. 小鼠高胆固醇血症快速造型法的研究 [J]. 药学通报, 1985, 70(1): 15-16.
[4] Manolov P N, Retkol V D. Experimental studies on the pharmacological activity of hyperoside [J]. Comp Rend Acad Bulgare Sci, 1997, 30: 1071.
[5] 江为群, 张艳, 方志炼, 等. 金丝桃苷对心肌脂质过氧化的影响 [J]. 中国药理学通报, 1995, 16(11): 123-124.
[6] 江为群, 马传庚, 徐舒云, 等. 金丝桃苷对心肌缺血与再灌注损伤的拮抗作用 [J]. 中国药理学通报, 1996, 17(4): 341-345.
[7] 陈志武, 马传庚. 金丝桃苷、槲皮素对小鼠脑缺血损伤的保护作用 [J]. 天然产物研究与开发, 1997, 9(2): 21-23.

双黄连粉针剂抗病毒作用

李凡, 易世红, 赵春艳, 魏强, 王放*

(白求恩医科大学 病原生物学教研室, 吉林 长春 130021)

摘要: 目的 明确双黄连粉针剂体内外抗病毒谱及作用机制。方法 采用组织细胞培养法、染料摄入法, 检测双黄连粉针剂对不同种病毒的作用, 改变给药时间、途径, 探讨双黄连粉针剂抗病毒作用环节。建立病毒性心肌炎、胰腺炎、流感动物模型, 通过组织病理学检查法, 观察双黄连粉针剂对感染动物的保护作用。结果 双黄连粉针剂具有明显抗流感病毒、呼吸道合胞病毒、腺病毒Ⅲ型、单纯疱疹病毒Ⅰ及Ⅱ型、柯萨奇病毒 B₃、A₁₆ 新型肠道病毒 71型的作用。对脊髓灰质炎病毒Ⅲ型、埃可病毒 6型、麻疹病毒、水泡性口炎病毒有一定的抑制作用。并能显著抑制肺炎、心肌炎、胰腺炎的发生, 疗效与清开灵相似, 优于穿琥宁粉针剂、鱼腥草、莪术油注射液。结论 双黄连粉针剂是一个较广谱的抗病毒剂, 抗病毒作用是多途径的。

关键词: 双黄连; 抗病毒; 细胞病变

中图分类号: R285.5; R286.87 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)01-0052-04

Studies on antiviral effect of SHUANGHUANGLIAN INJECTION*

LI Fan, YI Shi-hong, ZHAO Chun-yan, WEI Qiang, WANG Fang

(Department of Pathogenobiology, Norman Bethune University of Medical Sciences, Changchun Jilin 130021, China)

Abstract Object It was to expound antiviral spectrum and the mechanism of antiviral action of SHUANGHUANGLIAN INJECTION (SHLI). **Methods** To observe the inhibition of various virus by SHLI, the methods of tissue culture, cell culture as well as dye absorption test were used. The antiviral effect of SHLI was studied by using SHLI with different administration procedure and route. The animal models of myocarditis, insulinitis and pneumonia were made and the protection of SHLI in these animal models was observed. **Results** SHLI has significant antiviral effect against influenza virus, measles virus, respiratory syncytial virus, adenovirus, herpes simplex virus and was more excellent than CHUANHUNING, YUXINGCAO, EZHUYOU INJECTIONS. It also can strongly inhibit the development of myocarditis, insulinitis and pneumonia, and has a little antiviral effect against enterovirus. **Conclusion** SHLI is a wide-spectrum antiviral medicine and has various antiviral mechanism.

Key words SHUANGHUANGLIAN INJECTION (SHLI); antiviral; cytopathic effect

* SHUANGHUANGLIAN is a Chinese herbal preparation with *Flos Lonicerae*, *Fructus Forsythiae*, and *Radix Scutellariae*.

双黄连粉针剂是由金银花、连翘、黄芩 3味中药组成, 80年代已被提取制成无菌粉针剂, 广泛应用于临床。主要用于抗病毒、细菌感染和增强免疫力

等, 具有较广泛应用前景^[1-3]。鉴于该药在临床应用多年, 迄今为止未见进一步深入、详细抗病毒药效学研究及作用机制探讨的报道。为了更好地挖掘其多种

* 收稿日期: 2001-02-22

作者简介: 李凡, 女, 免疫学博士, 现任白求恩医科大学病原生物学教研室主任, 博士生导师, 主要从事分子病毒学研究, 抗菌药、抗病毒药效学研究。

功效及临床用途,明确作用机制,本研究室在以往工作基础上,从整体水平和细胞水平对双黄连粉针剂进行了应用基础理论方面的药效学研究

1 材料与方法

1.1 细胞系:人羊膜细胞(FL)长春生物制品所提供,人胚肾细胞(293)加拿大引进,人宫颈癌细胞(HeLa)为本室保存

1.2 动物:昆明种小鼠,♀♂各半,由白求恩医科大学实验动物部提供;18~20g,4周龄。

1.3 病毒:柯萨奇病毒 B₃ B₄(CVB₃、CVB₄)为美国引进,本教研室保存。柯萨奇病毒 A₁₆(CV A₁₆)、新型肠道病毒 71 型(EV71)为日本仙台国立医院赠。脊髓灰质炎病毒 III 型(PVIII)购于北京生物所。埃可病毒 6 型(ECHO6V),本校流行病学教研室提供。腺病毒 III 型(AdVIII)来自本校第一附属医院儿科。单纯疱疹病毒 I 型(HSV-1)、呼吸道合胞病毒(RV)购于中国药品生物制品检定所。单纯疱疹病毒 II 型(HSV-2)、流感病毒(A₃V)购于中国预防科学院病毒学研究所。麻疹病毒(MV)为长春生物制品所提供。风疹病毒(RV)、水泡性口炎病毒(VSV)为本室保存。

1.4 药品和试剂:双黄连粉针剂为棕黄色粉末,由哈尔滨医药股份有限公司中药二厂生产,卫药准字 Z-73 号。穿琥宁(CHN)为微黄色的冻干粉末,清开灵(QKL)注射液为棕黄色澄明液体,鱼腥草(HC)针剂为无色澄明液体,莪术油(ZTO)葡萄糖注射液为微黄澄明液体,均由哈尔滨医药股份有限公司中药二厂提供。培养基:IMDM(美国 GIBC 产品)。

1.5 仪器与方法

1.5.1 仪器:酶标测定仪、LBK 紫外可见分光光度计均由美国产,LC-9A 输液泵,低温离心机, Olympus 相差显微镜均为日本岛津公司产品。

1.5.2 细胞的筛选与制备:所用 14 种病毒分别接种于 FL、HeLa 及 293 细胞以测定敏感性,细胞按常规方法传代,同时制成 2×10^5 /mL 细胞悬液,每孔 0.1 mL,24 h 后形成单层细胞备用。

1.5.3 病毒毒力测定:采用 TCID₅₀ 微量法,本实验室采用不同病毒的 100~TCID₅₀/0.1 mL。

1.5.4 初筛与分组实验:形成单层细胞孔弃去培养液,加入对细胞无毒性浓度的药物作用 24 h,吸出药液加入病毒液,按一般病毒吸附的时间,均采用 37℃ 吸附 1 h 吸出,加入含药的维持液,置 37℃、5% CO₂ 恒温箱培养 48~96 h,待病毒对照孔病变达 +++ ~ + + + +,细胞对照正常时测结果。将初

筛有意义的病毒分 4 组进行实验,探讨药物的具体作用环节。I 组:感染前 24 h 给药,吸出药液,用 Hank's 液洗 3 遍,加入病毒液。II 组:感染后给药,先加液置 37℃ 吸附 1 h 洗去病毒加含药维持液。III 组:药液与病毒同时加入细胞层。IV 组:药液与病毒混合置 37℃、2 h 后加入细胞层。以上均设正常对照及病毒对照。

1.5.5 感染动物模型的建立及给药方案:病毒性心肌炎、胰腺炎、肺炎模型建立参见文献^[4]。实验动物随机分为病毒感染模型组、正常对照组、双黄连不同浓度给药组,其他同类药比较组,每组 10 只,均在相同条件下饲养,均为 ip 给药,剂量如下:双黄连 500, 150, 50 mg/kg;穿琥宁 50, 5, 2.5 mg/kg;清开灵 5, 2.5, 0.05 mL/kg;鱼腥草 5, 2.5, 0.05 mL/kg;莪术油葡萄糖注射液 75, 15, 7.5 mL/kg。

1.5.6 结果测定:①光镜下观察细胞病变(CPE);②染色摄入法^[5];③药物对组织细胞保护率计算^[6];④连续给药 1 周,无菌取小鼠胰腺、肺、心脏,分别作病理学、组织学检查,判断药物疗效。

2 结果与讨论

2.1 药物对细胞毒性:双黄连在 1:32 以上稀释、莪术油葡萄糖注射液在 1:8 以上稀释、清开灵在 1:16 以上稀释、穿琥宁 1:32 以上稀释、鱼腥草 1:16 以上稀释时,对 FL、HeLa、293 细胞均无毒性作用。

2.2 药物的保护浓度:选用药液与病毒液同时加入上述 3 种细胞层的方法,测定了 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256 等 5 个浓度的双黄连、穿琥宁、鱼腥草、清开灵、莪术油的抗病毒作用。①结果 1:32, 1:64, 1:128 三个稀释度的双黄连均有明显的抗病毒效应($P < 0.01$)。②莪术油在 1:16 1:32 有一定的抗病毒作用;清开灵在 1:16 1:32 1:64 三个稀释度均有明显抗病毒作用;鱼腥草、穿琥宁在 1:32 稀释时抗病毒作用较好。

2.3 初筛结果:利用光镜检查 CPE,结果表明双黄连可以不同程度地抑制 14 种病毒对组织细胞的 CPE,见表 1。

2.4 双黄连与其他 4 种药物抗病毒作用比较:见表 2。可以看出,双黄连抗病毒作用谱相似于清开灵,广于鱼腥草、穿琥宁、莪术油。

2.5 分组结果:在镜下观察 CPE 基础上,用结晶紫染色细胞,测定吸光度,以便进一步客观地反映加药与不加药之差别。I 组:实验目的是观察药物能否进入细胞或吸附于细胞表面,以阻止病毒的吸附与穿

表 1 双黄连对病毒致 CPE 的影响

病毒株	细胞对照	病毒对照	实验
CV B ₃	-	++++	-
CV B ₄	-	++++	-
CV A ₁₆	-	++++	-
PV _{III}	-	++++	±
BCHO ₆ V	-	++++	±
EV ₇₁	-	++++	-
HSV -1	-	++++	-
HSV -2	-	++++	-
RSV	-	++++	-
MV	-	++++	±
AdVIII	-	++++	±
A ₃ V	-	++++	-
RV	-	++++	++
V ZV	-	++++	±

注: - 无细胞病变;± 有延缓细胞病变作用;+ 1/4以下的细胞病变;++ 1/4~ 1/2的细胞有病变;+++ 1/2~ 3/4的细胞有病变;++++ 3/4以上的细胞有病变。(下表同)

表 2 双黄连与其他 4 种药物抗病毒作用比较

病毒	SHL	QKL	ZTO	CHN	HC	病毒对照	细胞对照
CV B ₃	-	-	+	+	±	++++	-
CV B ₄	-	-	+	+	±	++++	-
CV A ₁₆	-	±	+	+	±	++++	-
PV _{III}	±	±	+	±	+	++++	-
BC HO ₆ V	±	±	+	+	±	++++	-
EV ₇₁	-	-	-	-	-	++++	-
HSV -1	-	-	±	-	±	++++	-
HSV -2	-	-	-	-	-	++++	-
RSV	-	-	-	-	-	++++	-
MV	±	±	±	±	±	++++	-
AdVIII	±	-	-	-	-	++++	-
A ₃ V	-	-	-	±	-	++++	-
RV	++	+	-	-	+++	++++	-
V ZV	±	+	-	-	+	++++	-

表 3 双黄连对组织细胞的保护率

组别	CV B ₃	CV B ₄	CV A ₁₆	PV _{III}	BCHO ₆ V	RSV	MV	HSV -1	AdVIII	A ₃ V	EV ₇₁	HSV -2	V ZV
I	90.8	92.3	82.3	44.3	50.0	90.0	70.1	88.0	94.5	80.4	95.0	93.0	76.9
II	92.1	93.4	83.4	50.1	52.1	80.5	82.3	85.2	93.0	86.0	90.0	89.0	65.7
III	70.1	80.0	70.5	54.5	60.3	69.0	68.5	93.0	70.1	96.5	75.0	76.8	57.2
IV	69.0	81.2	70.0	60.5	75.3	60.2	70.0	79.4	68.9	80.1	70.0	70.0	50.4

表 4 双黄连对小鼠病毒性肺炎的治疗效果

组别	剂量 (mg/kg)	数量 (只)	肺指数 ($\bar{x} \pm s$)	抑制率 (%)
病毒对照	-	10	1.504 ± 0.290	
正常对照	-	10	0.980 ± 0.130	
SHL	10	10	1.182 ± 0.074	21.40
	3	10	1.125 ± 0.095	25.19*
	1	10	1.290 ± 0.220	14.22

同病毒对照组比较: * P < 0.05 ** P < 0.01

入。结果表明,双黄连此法对 A₃V, AdVIII, RSV, HSV -1, HSV -2, EV₇₁, CV B₃, CV B₄, CV A₁₆ 9种病毒有意义 (P < 0.05)。II 组:实验目的是观察药物能否对已进入细胞内的病毒起作用,抑制其生物合成及成熟释放。结果表明,双黄连此法对 A₃V, AdV III, MV, RSV, HSV -1, HSV -2, CV B₃, CV B₄, CV A₁₆, EV₇₁ 10种病毒有意义 (P < 0.05)。III、IV 组:为药物与病毒在不同条件下作用,观察药物对病毒直接灭活作用,结果表明,双黄连对除 RV 以外的 13种病毒均有作用。说明双黄连无论是药物与病毒同时加入细胞层或是药物与病毒先作用 2 h 然后加入细胞层,均具有抗病毒效应。对细胞的保护率最高可达 96%,见表 3

2.6 组织病理学检查:双黄连对 CV B₃病毒感染所

致的胰腺炎和心肌炎有明显的保护作用,治疗组胰腺腺组织结构基本正常,有少量淋巴细胞浸润。心肌仅见小灶状坏死,病毒对照鼠胰腺有大量淋巴细胞及分叶核细胞浸润,心肌大片灶状坏死。双黄连对小鼠病毒性肺炎的保护作用,见表 4

综上所述可见,双黄连粉针剂的抗病毒作用不仅在细胞水平上得以证实,即能显著的抑制、延缓细胞病变出现,也表现在整体水平上,即可有效抑制流感病毒性肺炎、病毒性心肌炎、胰腺炎的发生与发展,有着较好的疗效

关于双黄连抗病毒作用机制,从分组实验结果可以看出,作用是多途径的,不仅有直接灭活病毒的

作用,而且对吸附于细胞表面和进入细胞内的病毒也有抑制作用。从比较研究可以看出双黄连与清开灵抗病毒作用谱相似,但明显优于莪术油、穿琥宁、鱼腥草。我们的研究结果,将为进一步开发双黄连提供理论依据

参考文献:

- [1] 吴 汝,龙超峰.双黄连制剂在儿科呼吸道感染的临床应用 [J].中药新药与临床药理,1998,9(4): 242-244.
- [2] 林国珍,刘冬梅,朱 霖,等.注射用双黄连治疗小儿病毒性心肌炎疗效观察 [J].中国中西医结合杂志,1998,18(10): 601-603.
- [3] 陈双璐,路国金.注射用双黄连与几种抗生素联合体外抑药活性的研究 [J].现代应用药学,1998,15(4): 58-60.
- [4] 黄红兰,李 凡,姜春玲,等.柯萨奇 B4病毒感染对小鼠胰岛岛的影响及黄芪对其保护作用 [J].微生物学杂志,1999,19(2): 28-30.
- [5] 杜 平.医学实验病毒学 [M].上海:上海人民出版社,1982.
- [6] 李 凡,田同春,石艳春,等.龙牙总木总武抗病毒作用研究 [J].中国中药杂志,1994,19(9): 562-564.

中药复方有效成分淫羊藿苷的药代动力学研究

邹节明¹,孟 杰¹,颜正华²,龙致贤²,施雪筠^{2*}

(1. 桂林三金药业集团公司中药研究所,广西 桂林 541004 2. 北京中医药大学,北京 100029)

摘要:目的 探讨中药复方有效成分的变化,了解复方配伍后药物成分之间的相互作用.方法 放射性同位素追踪技术,观察复方中有效成分淫羊藿苷在动物体内的分布状态.结果 ³H淫羊藿苷在复方状态,经 ig 给予小鼠后,体内动力学行为符合开放性二室模型,并发现复方中其他成分有促进³H淫羊藿苷的吸收和促进与其靶器官结合的作用.结论 证实了中医复方配伍应用的科学性与合理性,也为淫羊藿的归经理论提供了科学依据.

关键词: 中药复方;有效成分;淫羊藿苷;体内分布;药代动力学

中图分类号: R285.61 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)01-0055-04

Pharmacokinetic studies of icariin in Chinese formulated medicine

ZOU Jie-ming¹, MENG Jie¹, YAN Zheng-hua², LONG Zhi-xian², SHI Xue-jun²

(1. Guilin Sanjin Pharmaceutical Group CO., Guilin Guangxi 541004, China;

2. Beijing University of TCM, Beijing 100029, China)

Key words Chinese formulated medicine; active constituents; icariin; internal distribution; pharmacokinetics

中药有效成分是发挥药效的物质基础,中药复方配伍应用后,体外过程中的化学成分之间的相互作用可概括为增溶、络合、化合三种现象.但复方药物进入体内后,成分之间有无这种现象尚不清楚.由于复方中药的成分繁多,成分之间在体内的相互作用更是复杂多样.目前对复方中药的体内过程的研究还较少,本研究用放射性同位素追踪技术,观察了复方中有效成分淫羊藿苷在动物体内的分布状态,研究了³H淫羊藿苷在复方状态下,经 ig 在动物体内的分布和各种动力学参数的差异,并发现复方中其他成分有促进³H淫羊藿苷的吸收和促进与其靶器官结合的作用,实验结果也为淫羊藿的归经理论提供了科学依据.

1 材料

1.1 动物:二级 NIH 雄性小鼠,体重 16~18 g,由卫生部北京生物制品研究所提供,合格证号:医动字(01)第(3071)号.

1.2 淫羊藿苷:由中国药品生物制品检定所提供,纯度大于 96%.³H淫羊藿苷:用微波激活法作氚标记,放射性比活度为 74 MBq/mg,放射性浓度为 37 MBq/mg·mL 甲醇,由原子能科学研究院 401 所提供.

1.3 示踪剂:取³H淫羊藿苷用生理盐水按 1:1 稀释.剂量:0.74 GBq/只,ig 给药.闪烁液:取 PPO 15 g, POPOP 0.3 g,加二甲苯 3 000 mL,混匀避光保存备用.

* 收稿日期:2000-10-12

作者简介:邹节明(1943-),湖南省常德市人,1966年6月毕业于武汉大学生物系药用植物专业(五年本科),高级工程师,桂林三金药业集团有限责任公司董事长、总裁兼总工程师,中国药典委员会委员,中国中医药管理局中医药工业专家咨询委员会委员,“中草药”杂志副主任编委,广西科协常委,北京中医药大学客座教授,博士生导师.作为第一项目完成人和设计者,研究开发并依法获准生产的新中成药 38种(其中重组配方制剂新中药 15种,剂型改进新中药 23种),已有 9种列入国家中药保护品种,16种列入国家基本药物.获国家科学大会重大科技成果奖 1项,国家科技进步奖三等奖 1项,广西科学大会优秀成果奖 2项,广西科技进步二等奖 1项,广西重奖研制推广科技成果有功人员特等奖 1项,均排名第一.首创的西瓜霜新工艺,在国内外独家实现工业化规模生产,是我国中药炮制改革的典范.创制的西瓜霜润喉片和三金片是中国中药名牌产品,并通过澳大利亚治疗性药品管理局(TGA)的药品注册审查.发表科技论文 12篇,主编《中成药的应用与药理》和独著《现代中成药的研究开发》二部专业著作. Tel 0773-5842588 E-mail sanjin@gl.gx.cninfo.net