

大豆总甙对病毒的抑制作用及其临床应用的研究

白求恩医科大学应用基础医学研究所(长春 130021) 李静波* 王秀清
吉林省长春市中心医院口腔科 胡吉生 陈保鸿
白求恩医科大学基础化学教研室 安占元 卫永弟

摘要 大豆总甙(Total Soyasaponin TS)对单纯疱疹病毒I型(HSV-I)、柯萨奇B₃(CoxB₃)病毒的复制有明显的抑制作用,同时体现出对病毒感染细胞很强的保护作用。其作用机理与TS对病毒的直接杀伤作用有密切关系。临床应用研究表明,对疱疹性口唇炎和口腔溃疡效果显著,有效率达88.8%和76.9%。本研究为应用TS治疗病毒性疾病提供了一定的实验依据。

关键词 大豆总甙 单纯疱疹病毒 口腔溃疡 疱疹性口唇炎

大豆是营养价值很高的食物,在中国和日本被广泛食用,以往多从营养角度进行研究,近年来人们发现,它不仅是食物而且具有很好的药物作用。如从大豆中提取的大豆皂甙(TS)具有抗氧化、抗凝血、降血脂、预防动脉硬化及防止过氧化脂质所致的肝损伤作用。目前,TS对病毒方面的影响报道甚少。本研究拟探索TS有否抗病毒作用,以便促进TS药用资源的开发利用。

1 材料

细胞:人羊膜细胞(FL)由长春生物制品所提供。

病毒:单纯疱疹病毒I、II型(HSV-I、HSV-II)、柯萨奇B₃病毒(CoxB₃)及脊髓灰质炎病毒I型(Polio-I);由北京生物制品所提供,腺病毒III型(ADV-III)由本校一院儿科提供;麻疹病毒(MV)为长春生物制品所冻干疫苗;水疱性口炎病毒(VSV)及新城鸡瘟病毒(NDV),由本校基础免疫室提供。

皂甙:由本校基础化学教研室提取。

2 方法

将FL细胞常规传代培养,用时制成 3×10^5 /ml细胞悬液滴于40孔或96孔培养板,每孔0.1 ml,于CO₂培养箱内37℃ 24h,然后分3组。细胞对照组、病毒对照组及实验组,后2组常规用100TCID₅₀感染病毒,然后实验组换含不同浓度TS的细胞维持液,细胞对照和病毒对照则不含TS的细胞维持液,培养48~72h,待病毒对照组出现+++病变时,测定结果。

测定方法:a)测定细胞的存活量:用中性红染料摄入实验^[5]。b)测定病毒的增殖量:用TCID₅₀微量法^[6]。

3 结果

首先选择TS对FL正常单层细胞上的无毒剂量,每日用倒置显微镜观察细胞生长状态,72h确定结果为TS含量在250μg/ml以下浓度,细胞均生长良好。

3.1 TS对8种病毒感染细胞的不同作用:采用8种病毒:HSV-I、HSV-II、Polio-I、CoxB₃、VSV、MV、NDV和ADV-3,病毒浓度均为100TCID₅₀/0.1ml分别常规感染FL细胞,然后换含125μg/ml的TS维持液,细胞对照和病毒对照同前,培养72h后用中性红染料摄入实验测定结果,见图1。

*Address: Li Jingbo, Institute of Applicable Basic Medicine, Narmen Bethune University of Medical Sciences, Beijing

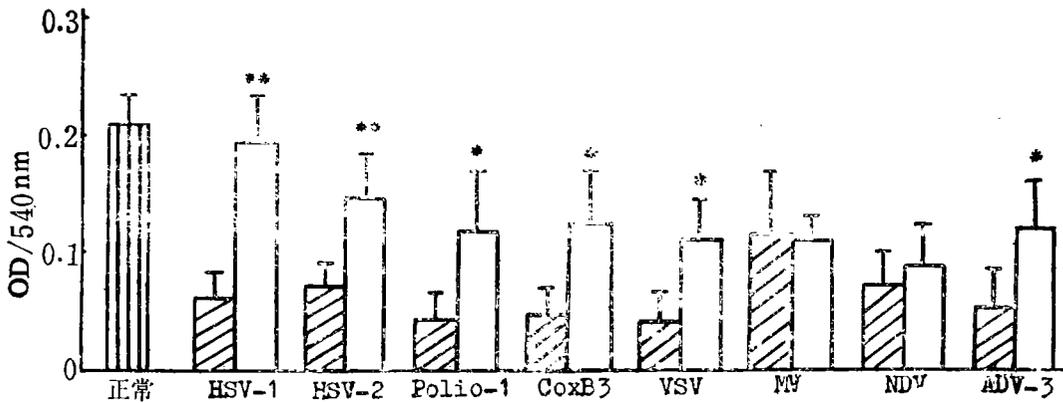


图1 TS对不同病毒感染细胞的作用

▨细胞对照组 ▨病毒对照组 □实验组, 实验组与病毒对照组比较 * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ ($n = 10$)

3.2 TS对病毒增殖量的影响: 为确定TS对病毒的增殖量有否影响, 在结果3.1的实验基础上, 选出3个实验组与相对应的病毒对照组, 分别测定TCID₅₀, 结果见表1。

表1 TS对病毒受制的抑制作用

病毒种类	培养时间 (h)	对照组	实验组	P值
		log TCID ₅₀	log TCID ₅₀	
HSV-I	72	5.40 ± 1.3	2.25 ± 0.9	<0.01
CoxB ₃	72	7.15 ± 1.5	3.675 ± 1.6	<0.01
MV	72	4.36 ± 1.1	3.84 ± 0.8	>0.05

3.3 TS作用机制的初探: 采用一种HSV-I病毒做分组实验, 第I组为先加药后加病毒, 第II组为先加病毒后加药, 第III组为病毒和药物等量混合在试管中37℃作用1h(以观察药物有否直接杀伤病毒作用), 然后加到细胞上, 72~96h后中性红实验, 测定结果见表2。

表2 TS的作用机制实验 ($\bar{x} \pm SD$)

正常细胞	HSV-I对照	I组	II组	III组
0.21 ± 0.025	0.07 ± 0.034	0.20 ± 0.034	0.185 ± 0.028	0.165 ± 0.041
		$P < 0.01$	$P < 0.01$	$P < 0.05$

P值: 对照与各组比较

3.4 含TS霜剂临床治疗观察: 实验室的工作目的在于临床应用, 我们配制了含TS的霜剂, 针对以疱疹性口唇炎、口腔溃疡为主的及其他几种疾病进行治疗观察。方法是3次/d, 涂敷患处, 病人反映该药无特殊气味, 止痛、消炎效果明显, 能使疱疹迅速破裂、收敛, 并能促进创口的愈合。病程由原来的1~2周缩短到3~5d痊愈, 结果见表3。

4 讨论

实验结果表明, 无论从病毒感染的细胞存活量, 还是从病毒的增殖量上, 都能证明TS对某些病毒感染细胞具有明显的保护作用, 能明显抑制HSV-I、CoxB₃病毒的增殖。同时TS不仅对HSV-I、ADV-I等DNA病毒, 并对Polio和CoxB₃等RNA病毒也有明显作用。这一结果比我们以往研究^[6]只对DNA病毒有作用更具优点, 呈现出广谱的抗病毒能力。

表3 临床疗效观察结果

疾病	例数	男	女	年龄	1周内痊愈	好转	有效率%	无效	无效率(%)
疱疹性口唇炎	45	21	24	6个月~37岁	33	7	88.8	5	11.2
口腔溃疡	26	14	12	1岁~48岁	15	5	76.9	6	23.1
扁平苔癣	8	3	5	8岁~45岁	0	1	12.5	7	87.5
手足疱疹	3	2	1	15岁~27岁	1	0	—	2	—
带状疱疹	2	1	1	19岁~39岁	1	0	—	1	—

实验中先加药后加病毒和先加病毒后加药,分别表明TS不但有预防而且有治疗HSV-I感染疾病的作用,TS直接加入HSV-I中则呈现出直接杀伤病毒的效应。

TS霜剂临床治疗的可喜效果,展示出此项研究继续深入的前景。关于作用机制,除了TS对HSV-I病毒的直接杀伤作用外,与TS对细胞具有钙通道的阻滞作用^[7],有利于细胞代谢。推测TS能够增强机体局部吞噬细胞和NK细胞的功能,从而增强抗病毒的免疫力。

目前对疱疹性口唇炎和口腔溃疡还缺乏理想的药物治疗,TS霜剂明显的减除了患者难以忍受的疼痛感,且大大缩短病程,的确值得推广和应用。而且从TS的来源看,可以从大豆中,甚至豆粕中提取,药用资源丰富,并能变废为宝,意义深远。

参 考 文 献

- 1 Kubo M, et al. Chem Pharm Bull, 1984, 32(4): 1467
- 2 Ohminami H, et al. Planta Med, 1984, 50(5): 440
- 3 Kimura Y, et al. Planta Med, 1986(6): 482
- 4 侯云德主编. 干扰素及其临床应用. 南京: 江苏科学出版社, 1980. 189
- 5 杜平主编. 医用实验病毒学. 北京: 人民军医出版社, 1985. 106
- 6 李静波, 等. 中国药理学通报, 1992, 8(3): 221
- 7 张文杰, 等. 白求恩医科大学学报, 1992, 18(6): 518

(1993-05-05收稿)

(上接第518页)

SD=0.04, CV=1.47%, 表明仪器精密度较好。

4 结果与讨论

4.1 对本品无论是鉴别试验, 还是含量测定方法的建立, 操作方法都比较简单、灵敏、专属性强、结果准确, 并且重现性好, 可作为其它剂型中成药中类似成分的鉴别及大蒜素含量测定方法的借鉴。

4.2 大蒜素的纯品经紫外分光光度仪测定最大吸收波长为 206 ± 1 nm, 本文作者考虑因206 nm波长接近末端吸收, 对流动相的纯度要求比较高, 根据试验考察, 大蒜素的响应值比较高, 故改为肩位吸收波长230 nm测定, 仍获得较满意的结果。

4.3 大蒜素对照品一定要置于密闭容器内, 避光、冰箱中贮藏为佳。

(1993-08-30收稿)

**Method for the Determination of Residual PCNB and Benzené
Hexachloride Isomers in Ginseng (*Panax ginseng*) by Capillary
Column Gas Chromatography**

Yuan Lan, Wang Yali, et al

A method for the detection of residual amount of pentachloro nitro benzene (PCNB) and benzene hexachloride isomers, in Ginseng was developed. The pesticides in Ginseng was extracted with acetone-n-hexane (1:2), purified with H₂SO₄, separated on ov-1701 flexible glass capillary column and determined by electron capture detector (ECD).

(Original article on page 519)

**Beneficial Effect of Gastrodia on Some Aging Disorders
Induced by D-Galactose in Mice**

Gao Nannan, Yu Shuren, Liu Ruihong, et al

A model of subacute senility state was established in mice by successive retrobulbar injection of 80 mg/kg D-galactose for 50 days. Concomitant oral administration of 4 g/kg and 8 g/kg gastrodia can effectively recover the decreased ability of the passive avoidance reaction in the model animals.

The activity of RBC SOD and the contents of hydroxyproline in the animals skin were markedly increased as well as the lipofuscin of myocardium. However, gastrodia was less effective to lower lipofuscin in liver and brain.

(Original article on page 521)

**Inhibitory Effect of Soyasaponin on Virus Replication
and Its Use in Clinic**

Li Jingbo, Hu Jisheng, An Zhanyuan

Experiment demonstrated that total soyasaponin (TS) possessed significant inhibitory effect on replication of HSV-1 and CoxB3 viruses and showed marked protective effects on the infected cells ($P < 0.05$ and $P < 0.01$). Preliminary studies on the mechanism of its action showed that TS had a direct killing effect on the viruses. A preparation of TS cream was tried in patients suffering from herpes labialis and oral ulcer. The treatment was highly effective with a cure rate of 88.8% and 76.9% respectively.

(Original article on page 524)

**Studies on the IR Spectra of Lobed Kudzuvine (*Pueraria lobata*)
and Xiaoji (*Cirsium setosum*) Collected at Different Times**

Tian Jinguo, He Xinliang, et al

Extracts of *Radix Pueraria* and *Herba Cirsii*, obtained by the same isolating procedure, were examined with IR spectra. Results showed that the IR spectra of *Radix Pueraria lobata* and *Herba Cirsii*, collected at different times had distinct characteristics, consistency and repeatability. The spectra of *Radix Pueraria thomsonii* also showed characteristic evidence. Accordingly, *Radix pueraria* and *Herba Cirsii* may be well distinguished by means of IR spectra.

(Original article on page 533)