

板蓝根抗病毒与抗内毒素等清热解药毒效作用 及化学基础研究进展

陈凯¹, 窦月¹, 陈智², 田景振^{1*}

(1. 山东中医药大学药学院, 济南 250355; 2. 山东省济南市第二人民医院药剂科, 济南 250001)

[摘要] 目的: 对板蓝根发挥清热解药毒效作用及其物质基础方面研究进行文献整理和分析。方法: 检索近 10 年来板蓝根研究相关文献, 引用文献 45 篇, 按照现代中药药理学关于中药清热解药毒效作用的认识进行归纳、分析和总结。结果: 板蓝根在抗病毒、抗内毒素、抗菌、抗炎、提高免疫功能等药理作用及其机制和相关药效物质基础等方面均有研究, 在此基础上提出一种多途径多组分研究板蓝根清热解药毒效作用的思路。结论: 目前对于板蓝根的研究已经取得较大成果, 但是对于板蓝根在中医理论中的清热解药毒效作用的相关药理及物质基础认识还不完善、不统一。建议采用多途径多机制多组分的思路对板蓝根进行研究。

[关键词] 板蓝根; 抗病毒; 抗内毒素; 药效作用

[中图分类号] R285; R284 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)18-0275-04

Advance of Radix Isatidis Pharmacological Action and Active Substances

CHEN Kai¹, DOU Yue¹, CHEN Zhi², TIAN Jing-zhen^{1*}

(1. Pharmacy College, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China;

2. Department of Pharmaceutical Preparation Section, The Second People's Hospital of Ji'nan, Ji'nan 250001, China)

[Abstract] **Objective:** The recent development on the Radix Isatidis pharmacological action and active substances was summarized. **Method:** The 45 published articles on Radix Isatidis were reviewed, analyzed, and concluded on the basis of contemporary pharmacology of traditional Chinese medicine. **Result:** Pharmacological action and active constituent of Radix Isatidis in anti-various, anti-endotoxin, anti-inflammatory and increase immune function has been researched. On this basis, the author put forward a new idea for researching the heat-clearing and detoxicating function of Radix Isatidis. **Conclusion:** There has been a great research achievement on Radix Isatidis. However, pharmacological action active constituent of heat-clearing and detoxicating function of Radix Isatidis still have no unified understanding. It advises to research Radix Isatidis by multi-channel, multi-mechanism and multi-constituent way.

[Key words] Radix Isatidis; anti-virus; anti-endotoxin; pharmacological action

板蓝根(Radix Isatidis)始载于《神农本草经》, 历代本草

对其均有描述, 《本草便读》载“板蓝根即靛青根, 入肝胃血分, 具清热、解毒、辟疫、杀虫之功”。其植物来源 2010 年版《中国药典》收载的是十字花科植物菘蓝 *Isatis indigotica* Fort. 的干燥根, 具有清热解药毒效、凉血利咽等功效^[1]。板蓝根的临床疗效在 2003 年的“非典”防治中得到充分证实。然而目前对于板蓝根的研究仍然不够充分, 其清热解药毒效的物质基础不太明确, 抗病毒物质基础和相关机制不是十分清楚。由于板蓝根药效物质基础不明确而造成板蓝根制剂生产工艺和质量标准不统一、不合理等问题。《中国药典》

[收稿日期] 20110317(010)

[基金项目] 国家重大新药创制——山东省重大创新药物综合平台——中药创新药物平台(2009ZX09301-013)

[第一作者] 陈凯, 硕士研究生, 从事中药新制剂开发研究, Tel: 0531-89628597, E-mail: sdzyyck@sina.com

[通讯作者] * 田景振, 博士, 教授, 从事中药新药研究与开发, Tel: 0531-89628080, E-mail: tianjingzhen@163.com

2005 年版对于板蓝根的质量控制只有简单的精氨酸定性薄层鉴别、水分和浸出物含量限定^[2],2010 年版也只是增加了 (R,S)-告依春的定性薄层鉴别和含量限定^[1],这不利于板蓝根的临床推广应用,因此,对近年来研究板蓝根清热解毒功效物质基础的相关文献进行总结是十分必要的。

传统中医理论认为“热毒”是由火热壅盛所致,主要体现在温热病和热毒炽盛症^[3],皆为里热。中医临床中的“里热证”主要包括现代医学的多种急性传染、感染性热性疾病。清热解毒药的药理作用主要有以下几个方面:①抗病原微生物作用;②抗细菌内毒素作用;③抗炎作用;④对免疫功能的影响^[4]。板蓝根是清热解毒类中药的代表,其药理作用和药效物质研究也多集中在这几个方面。

1 抗病毒作用

板蓝根抗病毒作用疗效比较明确,且能抵抗病毒的种类较为广泛。

1.1 抗流感病毒作用 板蓝根可明显延长甲型 H1N1 流感病毒感染小鼠的存活天数并提高存活率,且对受感染的小鼠的肺组织有一定程度的保护作用^[5]。有研究认为板蓝根的抗流感病毒有效部位为被强酸性阳离子树脂吸附部分并初步确定为结合氨基酸^[6]。板蓝根水提醇沉后上清液氯仿萃取部位具有同途径预防作用,而正丁醇部位具有异途径预防作用,初步推断板蓝根中的低极性成分如生物碱类和中等极性成分如有机酸类是发挥抗病毒作用的物质基础^[7]。板蓝根水提物、醇提物、总生物碱具有较强抗流感病毒作用,且作用强度相近;靛玉红无抗流感病毒作用,喹唑二酮略有抗流感病毒作用,表告依春及总生物碱提取物有明显的抗流感病毒作用且二者作用强度相当^[8]。该实验的研究结果表明板蓝根中总生物碱是发挥抗病毒作用的主要有效部位之一,其中又以表告依春为主要有效成分。这个结论和 2010 年版《中国药典》中将 (R,S)-告依春作为板蓝根的质量控制指标^[1]是相吻合的。也有研究表明板蓝根酸性提取物具有较强的直接抑制流感病毒的作用^[9]。板蓝根多糖能促进小鼠非特异性免疫和体液免疫功能,并参与调节细胞免疫功能,提高小鼠抗流感病毒感染的能力^[10]。日本学者 Yamada 认为板蓝根抗病毒成分为糖蛋白和多糖,且分离出单一相对分子量的抗病毒多糖,板蓝根多糖除有直接抗病毒作用外,还可促进抗流感病毒 IgG 抗体的生成,可作为抗病毒疫苗的佐剂^[11]。在板蓝根的抗病毒机制方面,有研究发现经板蓝根保护过的细胞,能有效阻止 H1N1 型流感病毒对细胞的吸附,因此推测板蓝根有效成分能结合到细胞膜上,抑制流感病毒对细胞的结合而引起保护细胞的作用,达到抗病毒的目的^[12]。流感病毒核蛋白,是病毒基因组复制转录所必须的结构,在病毒感染与致病方面具有重要意义,板蓝根凝集素可抑制甲型流感病毒核蛋白基因的表达,从而在分子生物学层面上解释板蓝根抗病毒作用机制^[13]。

1.2 抗肝炎病毒 采用酶联免疫吸附测定法及放射免疫测定法检测发现板蓝根提取物及板蓝根注射液对乙型肝炎表

面抗原(HBsAg)、乙型肝炎病毒 e 抗原(HBeAg)、乙型肝炎病毒的核心抗原(HBcAg)及 HBV-DNA 有显著的抑制作用,其程度与三氮唑核苷($25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)、聚肌胞($0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)相似^[14]。

1.3 抗单纯疱疹病毒 有人研究板蓝根及其不同化学部位抑制单纯疱疹病毒-I(HSV-I)等典型呼吸道病毒对 Hep-2 细胞感染的作用。结果表明板蓝根各部位在不同质量浓度时($0.25 \sim 32 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$),均出现典型的 HSV-I 感染所致 CPE,其程度随药液浓度增加有所降低,病毒抑制率皆与药物浓度呈正相关,显示板蓝根具有直接灭活 HSV-I 的作用^[15]。

1.4 抗其他种类病毒 板蓝根煎剂($\varphi = 50\%$)对人巨细胞病毒(HCMV)有抗毒效应,其在 1:200 稀释度时即有显著的抗毒效应^[16]。板蓝根不同提取部位对转染流行性腮腺炎病毒的 Hela 细胞系细胞都具有一定的保护作用,其活性比较为乙酸乙酯部位 > 正丁醇部位 > 氯仿部位 > 水提部位 > 石油醚部位^[17]。

2 抗内毒素作用

邓文龙等对中医药清热解毒的科学实质进行了探索,认为内毒素是中医“热毒”的重要物质基础,抗内毒素作用是清热解毒方药的一个重要属性^[18]。研究发现板蓝根 1% 氯仿提取物溶液稀释 32 倍仍可使等体积的 $10 \text{ EU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内毒素破坏^[19]。进一步将氯仿提取液分离得到 4 个不同极性组分 F021, F022, F023, F024, 分别观察对内毒素致小鼠死亡保护作用及对内毒素致鼠巨噬细胞分泌炎症因子肿瘤坏死因子(TNF- α)、白细胞介素-6(IL-6)的影响,发现板蓝根 F022 组分抗内毒素活性最强,认为该部位为板蓝根抗内毒素活性物质^[20]。通过内毒素致兔发热实验、内毒素致 BCG 增敏小鼠死亡实验进一步证实 F022 部位有抗内毒素作用,并分析其机制可能与 F022 能竞争性阻断 LPS 与其受体相结合有关^[21]。F022 部位不仅直接破坏内毒素结构,还能阻断内毒素引起的信号传导通路,从而抑制机体炎症因子的过度释放、抑制膜结构伸展刺突蛋白和丝裂原活化蛋白激酶的表达^[22]。板蓝根 F022 部位对脂多糖致小鼠肝、肾、脾组织 moesin mRNA 表达有抑制作用^[23]。板蓝根高极性部位(F_{10})联合板蓝根 F022 部位显著延长 BCG 增敏小鼠受内毒素攻击后的存活时间^[24]。板蓝根中总有机酸部位内毒素致大鼠发热模型具有显著的解热作用^[25]。从板蓝根中分离得到 3-(2'-羟基苯基)-4(³H)-喹唑酮、4(³H)-喹唑酮、丁香酸、邻氨基苯甲酸、水杨酸和苯甲酸这 6 种化合物有体外抗内毒素作用,其中 S 化合物有半体内抗内毒素活性,但是筛选出的几个化合物作用均不及板蓝根氯仿提取部位,因此可以认为板蓝根发挥抗内毒素作用是氯仿提取部位中数种化合物同时作用的结果^[26]。

3 抗菌作用

板蓝根水浸液对金黄色葡萄球菌、肺炎双球菌、流感杆菌、脑膜炎双球菌等 10 种细菌均有抑制作用^[27]。板蓝根不同种质中,小叶板蓝根对细胞的毒性作用、抗病毒作用以及

对金黄色葡萄球菌的抑菌作用均明显优于大叶板蓝根^[28]。板蓝根水煎液不同极性部位对金黄色葡萄球菌均有较强的作用,且强度相差不大,板蓝根通过多种有效成分(如有机酸、氨基酸、生物碱等不同极性的化学成分)相协同而发挥抑菌作用^[29]。分析比较板蓝根中总苯丙素、总有机酸、总生物碱及相互组合共7组的抑菌能力,发现总有机酸抑菌效果最佳且高浓度优于低浓度^[25]。板蓝根多糖能增强抗体产生,调节细胞因子释放,提高宿主体液免疫和细胞免疫,保护宿主抵抗胞内菌的感染^[30]。此外有研究发现板蓝根多糖能显著抑制致病性大肠埃希菌对PK215细胞的黏附能力,且浓度越大抑制效果越好,提示板蓝根多糖可能存在与黏附素或受体结构极类似的结构,从而能封闭宿主细胞上的细菌受体进而阻止细菌感染^[31]。

4 抗炎作用

炎症是感染性疾病中最重要的病理过程,板蓝根70%醇提液能抑制二甲苯致小鼠耳肿胀、角叉菜胶致大鼠足跖肿、大鼠棉球肉芽组织增生及醋酸致小鼠毛细血管通透性增加^[32]。板蓝根不同溶剂萃取部位中V部位能显著抑制二甲苯所引起的急性炎症反应,抗炎活性最强,所含化学成分极性较大^[33]。板蓝根水提醇沉提取物中酸性、中性和两性化合物抗炎作用不明显,而碱性化合物和板蓝根都具有明显的抗炎作用^[34]。

5 提高免疫功能

板蓝根多糖能明显增加正常小鼠脾重、白细胞总数及淋巴细胞数,促进单核巨噬细胞系统功能;明显增强抗体形成细胞功能,增加小鼠静注碳粒廓清速率^[35]。板蓝根70%乙醇提取液能使脾指数、T、B淋巴细胞刺激指数、RBC-C3bR花环阳性率都明显增高,RBC-IC花环阳性率显著降低,其提高红细胞免疫系统功能的作用极其显著^[36]。多形核白细胞(PMN)吞噬和杀灭细菌的过程是机体的一项重要免疫功能,化学发光是PMN呼吸爆发的标志,产生多种具有强烈杀菌作用的氧活性基团,板蓝根低极性流分对PMN化学发光有双向免疫活性,在低浓度时具有激活作用,在高浓度时具有抑制作用^[37]。

6 结语与展望

板蓝根作为清热解毒类中药的代表之一,其抗病毒和抗内毒素作用是目前研究得比较深入的部分,对于“清热解毒”这个传统医学领域里的概念,不同学者有不同的理解,有人认为清热解毒中药所解之“毒”不仅包括“外源性之毒”(细菌、病毒、内毒素),还包括氧自由基和过度释放的细胞因子等“内源性之毒”^[38-39]。而板蓝根在对细菌、病毒等的直接杀伤或抑制其繁殖的能力并不是太强,不足以解释在临床中良好的抗感染性疾病作用,板蓝根较强的抗内毒素作用是对抗“外源性之毒”的关键所在^[40]。再加上板蓝根在拮抗氧自由基、抑制炎症介质(TNF- α , IL-6, IL-8, NO等)合成与释放,阻滞其级联反应,有利于控制过度的炎症反应,从而有效地控制病情^[41-43]。综合目前研究来看,板蓝根发挥清热解毒功

效有效物质主要集中在生物碱类[如:2,4(1H,3H)喹唑二酮、表告依春等],有机酸类(如丁香酸、邻氨基苯甲酸、水杨酸和苯甲酸等),结合性氨基酸类,多糖类这些部位,它们通过调节不同机制和不同途径相互协调,共同发挥作用。

板蓝根临床应用较为广泛,相关制剂也很多,然而这些制剂目前都存在生产工艺不稳定,制剂质量标准较单一的问题。例如在制备工艺基本上采用的是水提醇沉法,这种方法不仅浪费了绝大多数的大分子多糖类成分,而且某些水溶性较差的有效物质如生物碱类成分提取效率较低,从而使疗效降低。很多文献以靛蓝和靛玉红为指标优选生产工艺也是不合理的,因为靛蓝和靛玉红本身并不是板蓝根中抗病毒有效物质。在质量标准上依然采用的是较为简单的浸膏量控制和定性控制,方法较为简单。因此,期望在后续对板蓝根研究中,研究人员应充分考虑板蓝根的多途径多机制清热解毒作用,在生产工艺的优化上,注重以多成分为考察指标,例如以总生物碱、总有机酸、总氨基酸、总多糖四者为考察指标,这样生产出的制剂既符合传统中医药理论又符合中药五类新药的要求。在质量标准的研究中,应注重指纹图谱研究,选择能代表板蓝根临床药效的有效成分为指标,例如4(3H)-喹唑酮^[44]、水杨酸、表告依春、精氨酸等建立质量标准。通过控制板蓝根物质群的整体疗效控制其质量的生物检定法控制板蓝根质量也是具有较大的现实意义的^[45]。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2010:191.
- [2] 中国药典.一部[S].2005:142.
- [3] 高学敏.中药学.上册[M].北京:人民卫生出版社,2000.
- [4] 陈奇.中药药理研究方法学[M].2版.北京:人民卫生出版社,2006:261.
- [5] 孙惠惠,邓巍,占玲俊,等.板蓝根颗粒对甲型流感病毒小鼠的作用[J].中国比较医学杂志,2010,20(7):53.
- [6] 刘思贞,祝希娴,邵玉芹,等.板蓝根抗流感病毒有效部位的筛选[J].中草药,1999,30(9):650.
- [7] 柏健,肖慧,张继华,等.板蓝根抗病毒活性部位的筛选研究[J].中药新药与临床药理,2007,18(1):12.
- [8] 徐丽华,黄芳,陈婷,等.板蓝根中的抗病毒活性成分[J].中国天然药物,2005,3(6):359.
- [9] 石磊,万宗明,董堃瑾,等.四种板蓝根提取物抗流感病毒作用实验研究[J].武警医学院学报,2010,19(9):689.
- [10] 左娅,代明,王志勇,等.板蓝根多糖对小鼠抗流感病毒感染的作用[J].华西药学杂志,2008,23(6):666.
- [11] Yamada H. Antiviral compositons containing new glycoprotein from *Isatis tinctoria*. Japan;11 60599[99 60

- 599] [P], 1999-03-03.
- [12] 陈智伟, 吴灵威, 刘树滔, 等. 毛细管电泳法研究板蓝根水提物抗流感病毒的作用机制[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(20): 1715.
- [13] 徐咏书, 孙坚, 何士勤. 三种板蓝根制剂对流感病毒核蛋白表达的影响[J]. 山东医药, 2010, 50(27): 8.
- [14] 蒋锡源, 杨珍珠, 胡志军, 等. 50 种治疗肝炎中草药与制剂体外抑制 HBsAg 活性的比较[J]. 现代应用药学, 1992, 9(5): 208.
- [15] 方建国, 汤杰, 杨占秋, 等. 板蓝根体外抗单纯疱疹病毒 I 型作用[J]. 中草药, 2005, 36(2): 242.
- [16] 孙广莲, 胡志力, 孟红, 等. MTT 法检测板蓝根抗巨细胞毒效应[J]. 山东中医药大学学报, 2000, 24(2): 13.
- [17] 赵艳玲, 肖小河, 胡艳, 等. 生物热力学法比较板蓝根不同提取部位的抗病毒作用[J]. 解放军药科学学报, 2005, 21(6): 410.
- [18] 邓文龙. 中医解毒法实质的研究及内毒素性疾病的中医药防治[J]. 中药药理与临床, 1992, 8(4): 40.
- [19] 刘云海. 板蓝根抗内毒素作用研究[J]. 中国药科大学学报, 1995, 26(5): 297.
- [20] 刘云海, 方建国, 王文清, 等. 板蓝根抗内毒素活性物质筛选[J]. 中南药学, 2004, 2(6): 326.
- [21] 林爱华, 方淑贤, 方建国, 等. 板蓝根 F022 部位抗内毒素活性研究[J]. 中国中药杂志, 2002, 27(6): 439.
- [22] 林爱华, 刘云海, 刘奕明. 板蓝根 F022 部位抗内毒素分子机制研究[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(6): 897.
- [23] 刘云海, 谢委, 方建国, 等. 板蓝根有效部位 F022 对脂多糖刺激小鼠组织膜结构伸展刺突蛋白 mRNA 表达的影响[J]. 医药导报, 2006, 25(1): 1.
- [24] 林爱华, 刘奕明, 丘小惠, 等. 板蓝根高极性部位增强 F022 抗内毒素活性的研究[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(2): 156.
- [25] 程妍, 李祥, 许金国, 等. 板蓝根有效部位的抑菌解热药效研究[J]. 中药新药与临床药理, 2010, 21(6): 589.
- [26] 刘云海, 秦国伟, 方建国, 等. 板蓝根抗内毒素活性化学成分的筛选[J]. 医药导报, 2002, 21(2): 74.
- [27] 黄文玉, 唐敏, 王书珍, 等. 27 种清热解毒中药对葡萄球菌耐药菌株的实验研究[J]. 山东中医杂志, 1991, 10(3): 40.
- [28] 谢晓亮, 尹晓琳, 温春秀, 等. 小叶板蓝根抗病毒及抑菌效果比较研究[J]. 中国现代中药, 2010, 12(9): 38.
- [29] 郑汝, 梁锦丽. 板蓝根不同提取部位抗菌活性的实验性研究[J]. 海峡药学, 2010, 22(4): 32.
- [30] 夏新中, 肖静, 石国芳, 等. 板蓝根多糖对宿主抵抗鼠伤寒沙门菌感染能力的影响[J]. 武汉大学学报: 医学版, 2007, 28(3): 348.
- [31] 张红英, 王学兵, 赵现敏, 等. 板蓝根多糖抑制致病性大肠埃希菌细胞黏附的试验研究[J]. 微生物学杂志, 2010, 30(1): 61.
- [32] 卫宗玲, 闫杏莲. 板蓝根的抗炎作用[J]. 开封医学学报, 2000, 19(4): 53.
- [33] 汤杰, 施春阳, 徐晗, 等. 板蓝根抑菌抗炎活性部位的评价[J]. 中国医院药学杂志, 2003, 23(6): 327.
- [34] 高欣, 董堃瑾, 金鑫, 等. 板蓝根抗炎活性部位筛选的初步研究[J]. 武警医学院学报, 2010, 19(9): 709.
- [35] 许益民, 陆平成, 王永珍, 等. 板蓝根多糖促进免疫功能的实验研究[J]. 中西医结合杂志, 1991, 11(6): 357.
- [36] 金明哲, 任东鲜, 孟繁平, 等. 板蓝根对机体免疫功能及流感病毒 FM 的作用[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(2): 394.
- [37] 秦箐, 贺海平, 陈鸣. 板蓝根低极性流分的分离及其免疫活性[J]. 中国临床药理学杂志, 2001, 10(1): 29.
- [38] 李鸣真, 叶望云, 陆付耳. 中医“清热解毒”法实质的研究[J]. 浙江中西医结合杂志, 2000, 10(8): 449.
- [39] 陆付耳, 李鸣真, 叶望云. 清热解毒治法研究的思路与方法[J]. 中国中西医结合杂志, 2004, 24(12): 1124.
- [40] 方建国, 刘云海, 王文清. 板蓝根清热解毒实质研究[J]. 中草药, 2008, 39(3): 321.
- [41] 刘云海, 林爱平, 丁水平, 等. 板蓝根对内毒素致炎性因子的影响[J]. 中国药科大学学报, 2001, 32(2): 149.
- [42] 刘云海, 林剑国, 雷婷. 板蓝根有效部位对脂多糖致小鼠血清中 TNF 和 NO 的影响[J]. 中草药, 2003, 34(20): 152.
- [43] 汤杰, 施春阳, 方建国. 板蓝根对内毒素性 DIC 家兔血清 LPO、SOD 水平的影响[J]. 医药导报, 2004, 23(1): 4.
- [44] 李玲, 董同义, 李修禄, 等. 大青叶类药材及其制剂质量控制的研究[J]. 药学学报, 1994, 29(2): 128.
- [45] 马莉, 金城, 李祖伦, 等. 生物检定与板蓝根质量控制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(2): 134.

[责任编辑 邹晓翠]