

银翘散的抗病毒作用研究进展

范红江 王克林

(中国中医科学院中医基础理论研究所, 北京, 100700)

摘要 文章从银翘散单味药实验研究、银翘散复方实验研究对银翘散抗病毒效应作一综述, 为进一步深入探讨其作用机制提供基础。

关键词 银翘散; 流感; 抗病毒效应; 研究进展

Research Progress on the Antiviral Effect of Yinqiao San

Fan Hongjiang, Wang Kelin

(Institute of Traditional Chinese Medicine Basic Theory of Chinese Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

Abstract This paper reviewed literature on Yinqiao San single medicine research and its compound application research and tried to summarize the antiviral effect of Yinqiao San, and thus to shed lights on its mechanism of action.

Key Words Yinqiao San; Antiviral effect; Research progress

中图分类号: R285 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2016.07.059

银翘散出自《温病条辨》, 是清代著名医家吴瑭论治温病的重要方剂之一。此方是吴氏谨遵《黄帝内经》“风淫于内, 治以辛凉, 佐以苦甘; 热淫于内, 治以咸寒, 佐以甘苦”的宗旨, 法喻嘉言芳香逐秽之说, 又用李东垣清心凉膈散而成, 此法为辛凉解表之法^[1]。全方共金银花、连翘、牛蒡子、生甘草、芥穗、淡豆豉、薄荷、竹叶、苦桔梗、芦根 10 味药, 奇奏辛凉解表, 清热解毒之功。方中加辛凉之银花、芳香之芥穗, 散热解毒; 润肺辛平之牛蒡子, 解热散结, 除风利咽, 皆手太阴药也; 而病初起, 且去入里之黄芩, 勿犯中焦^[1]。临床用治温病初起, 发热微恶风寒, 无汗或有汗不畅, 头痛口渴, 咳嗽咽痛, 舌尖红, 苔薄白或薄黄, 脉浮数^[2]。现代临床主要用于流感^[3]、手足口病^[4]、外感耳鸣^[5]、紫癜性肾炎^[6]、玫瑰糠疹^[7]、菊池病^[8]等。我们就近 20 年来银翘散之抗病毒研究综述如下。

1 银翘散方中单味药的抗病毒效应之实验研究

银翘散中主要抗病毒药物有金银花、连翘、牛蒡子、生甘草。

1.1 金银花 《本草新编》谓其消毒、解毒、败毒、散毒之神品。金银花中富含挥发油、有机酸、环烯醚萜、黄酮以及三萜皂苷等多种化学成分, 这些成分也正是金银花发挥抗病毒的有效物质^[9]。金银花中活性成分绿原酸对呼吸道合胞病毒和柯萨奇 B 组 3 型病毒具有明显的抑制作用^[10]。金银花中黄酮类成

分有较强的抗呼吸道病毒作用^[11]。金银花 1:20 水煎剂抗流感病毒和疱疹病毒有效^[12]。双花喷雾剂体内实验表明^[13]大剂量 (114 g/kg · d) 对小鼠肺内流感病毒增殖有显著抑制作用。

1.2 连翘 《神农本草经》谓其专主结热蛊毒, 恶疮瘰瘤, 寒热鼠疫, 瘰疬痈肿。连翘挥发油对流感病毒感染小鼠有保护作用, 在鸡胚内能抑制流感病毒亚甲型、副流感仙台株的增殖^[14]。有学者发现^[15]连翘具有抗病毒作用, 且连翘水煎剂在 Hep-2 细胞有明显抑制 HSV-1 作用。有研究认为连翘抑制 RSV 活性作用可能是通过抑制合胞体的形成实现的^[16]。在 Hep-2 细胞中, 连翘不同部位的有效成分对单纯疱疹病毒的复制过程均有抑制作用, 且抑制作用程度与有效成分的部位有关^[17]。

1.3 牛蒡子 《本草经疏》谓其散风除热解毒要药。主要活性成分有牛蒡子苷和牛蒡子苷元。牛蒡子苷的定量测定对于银翘散抗流感病毒有效部位群 (EFY) 的质量控制应具有重要意义^[18]。牛蒡子苷元是抗 HIV/AIDS 的活性物质, 它对人类免疫缺陷病毒 I (HIV-1) 及 DNA 拓扑异构酶 2 整合酶活性有抑制作用^[19]。牛蒡子乙醇提取物能抑制 B95-8 细胞中 EBV 抗原的表达, 且抑制效果较好, 除药后仍有较长时间的抑制作用, 细胞毒性作用甚微^[20]。王雪峰^[21]发现牛蒡子提取物可有效抑制甲型流感病毒 FM1 株。

基金项目: 国家重大科技专项 (编号: 2012ZX10004301008); 中国中医科学院自主选题项目 (编号: YZ-1413)

通信作者: 王克林 (1964.05—), 男, 研究生, 研究员, 病毒病中心主任, 研究方向: 中医药防治流感与艾滋病分子机制研究, E-mail: wang_kl@hotmail.com

1.4 甘草 《本经逢原》谓其九土之精,梢去茎中痛,节解痈疽毒,条草生用解百药毒。甘草主要成分有甘草酸、甘草苷、甘草甜素、甘草次酸等。在 HeLa 细胞中,抗病毒有效部位(GD4)具有明显抑制呼吸道合胞病毒的作用^[22]。在 Vero 细胞内,甘草酸有抑制 CVB3 病毒增殖的作用,且其作用与浓度的变化密切相关,这些是在等量病毒感染细胞的前提下完成的^[23]。甘草黄酮具有良好的抗艾滋病毒效果^[24],但它抑制 HIV 感染的有效浓度高,范围较窄^[25]。体外研究发现,甘草甜素除了抑制带状疱疹病毒(VZV)的增殖(ID50 = 0.71 mmol/L)外,还对 VZV 有直接灭活作用^[26]。实验证明甘草酸可诱导干扰素增强自然杀伤细胞活动、激活免疫,并且可以抑制 HIV 增殖^[27]。甘草多糖具有明显的抗水疱性口炎病毒、腺病毒 3 型,单纯疱疹病毒 1 型和牛痘病毒活性作用,具体表现为明显抑制 CPE 的形成,且具有较好的保护培养细胞的作用^[28]。

2 银翘散方加减抗病毒效应与机制研究

石钺等^[29-30]研究发现,金银花、连翘、荆芥、薄荷对银翘散抗病毒有效部位群(EFY)贡献程度最大,且黄酮类成分(醉鱼草苷、金合欢素、金丝桃苷等)可能是银翘散抗流感病毒的主要物质基础之一。银翘散体外实验对甲 1 型流感病毒的增殖未见抑制作用,但体内实验结果表明,可显著改善流感病毒引起的小鼠肺炎症状,延长生存率,对甲 1 型流感病毒感染小鼠有死亡保护作用,对病毒性感冒显示了较好的疗效^[31]。而周远鹏等研究发现,银翘解毒片体内表现出明显减少病毒引起的死亡,体外也有明显的抗病毒作用^[32],这与前者研究结果略有不同。银翘滴鼻剂抗病毒作用优于银翘解毒丸^[33]。银翘散含有的有效成分是牛蒡子素和甘草甜素,单独应用抗病毒效果弱于银翘散,这提示银翘散在各种成分协同下抗病毒作用大于单独成分的抗病毒效果^[34]。银翘散体内抗病毒效果水提物强于乙醇提取物^[35]。与此不同,另有体外研究发现,30% 醇提物抑制流感病毒作用最强。Kobayashi M 等研究结果表明,银翘散对流感病毒感染小鼠的保护作用主要表现在提高存活率、延长平均存活时间和减少肺实变 3 个方面^[36]。吴莹等研究发现,银翘散合犀角地黄汤(XDY)及其含药血清,可明显抑制流感病毒性肺炎小鼠肺泡巨噬细胞内炎性细胞因子、炎性递质、氧自由基的产生^[37-38]。

XDY 治疗流感病毒性肺炎的作用机制,可能与抑制流感病毒感染引起的 RPMVECs 黏附分子表达,

或可能是主要通过抑制机体的炎症级联反应有关^[39-40]。张秀英等研究^[41]发现,流感病毒感染小鼠时激活了 MyD88/NF- κ Bp65 信号通路,双表法(银翘散合玉屏风散)能较好的抑制 MyD88 mRNA 及 NF- κ Bp65 mRNA 的表达。银翘散治疗病毒性肺炎的机制是通过抑制 TLR-7 介导的 MYD88 依赖性信号通路,抑制了 NF- κ Bp65 的表达,或很可能是降低 NF- κ Bp65、TLR4 表达^[42]。时宇静等^[43]研究发现,银翘散可能通过上调流感病毒感染鼠肺组织内 IFN- γ mRNA 相对表达量,来发挥抗流感病毒的作用。银翘散可以降低血清中 IFN- γ ,从而减少炎性损伤,并且 IgG 含量与感染模型组差异不明显,有可能因为在病毒早期,机体只能产生具有亲和力的抗体^[44]。银翘解毒口服液不仅提高流感病毒 FM1 感染 SCID 小鼠血清 TGF- β 1 含量,降低 TNF- α 含量,维持免疫系统的平衡,而且有提高小鼠脾脏 NK 细胞活性以及血清 IFN- γ 含量的作用,并且对 NK 细胞活性和 IFN- γ 含量具有不同的时效影响^[45-47]。

3 讨论

以上关于银翘散抗病毒研究可以分为体内、体外研究方法,其中体外研究方法一般采用流感病毒感染 MDCK 细胞法和鸡胚法,体内研究方法往往采用流感病毒肺适应株感染小鼠模型。随着对银翘散研究的不断深入,也发现了一些问题:1)银翘散体外是否具有抗病毒效应报道不一致,有待深入的实验研究;2)银翘散抗流感病毒机制与 TL7 的表达相关?还是与 TL4 的表达相关?或者二者表达都相关?有待深入研究予以确认;3)银翘散抗流感病毒效应多为体外药效学实验,缺少体内实验证实;4)银翘散制剂及银翘散的量-效关系有待于进一步重视。

中医传统理论认为:“大都发散之药,及芳香之药,不宜多煎,取其多而疏荡……故方药虽中病,而煎法失度,七药必无效”。吴鞠通在银翘散方后注:“香气大出”“勿过煎”的要求,体现了吴氏“治上焦如羽,非轻莫举”之用药原则。故煎煮时间是银翘散抗病毒作用有效发挥的重要保证,今后应该予以重视。使用血凝实验来探讨中药复方干预研究中,常常引发红细胞聚集现象,并导致假阳性结果^[36],因此,必须先测定中药的最大不凝血浓度,以尽可能的避免不良的影响因素^[49]。

参考文献

- [1] 吴瑭. 温病条辨[M]. 北京:人民卫生出版社,2005:18-19.
- [2] 邓中甲. 方剂学[M]. 北京:中国中医药出版社,2010:34.
- [3] 李曦,段玲,欧阳刚. 银翘散加减治疗甲型 H1N1 流感 43 例[J]. 河南中医,2014,34(10):1938-1939.

- [4] 王云飞, 刘伟霞, 于秋丽. 银翘散加减治疗外感后耳鸣 36 例[J]. 中国乡村医药, 2006, 13(6): 49.
- [5] 朱奕豪, 王真, 陈婉姬. 银翘散加藿朴夏苓汤治疗小儿手足口病的随机临床对照研究[J]. 浙江中医药大学学报, 2008, 32(4): 448-449.
- [6] 韩玉昆, 郭鹏丽, 王卫东. 银翘汤加减治疗紫癜性肾炎 65 例[J]. 光明中医, 2014, 29(1): 68-69.
- [7] 徐忠良, 钟坚, 张珽影. 银翘散加味治疗玫瑰糠疹 38 例[J]. 江西中医药, 2006, 37(10): 37.
- [8] 管伟, 胡爱民. 银翘散治疗菊池病 1 例[J]. 中国中西医结合杂志, 2014, 34(5): 631-632.
- [9] 王亚丹, 杨建波, 戴忠, 等. 中药金银花的研究进展[J]. 药物分析杂志, 2014, 34(11): 1928-1935.
- [10] 刘恩荔, 李青山. 大孔吸附树脂分离纯化金银花中总有机酸的研究[J]. 中草药, 2006, 37(12): 1792-1796.
- [11] 马双城, 刘燕, 毕培曦, 等. 金银花药材中抗呼吸道感染病毒的黄酮类成分的定量研究[J]. 药物分析杂志, 2006, 26(4): 426-430.
- [12] 胡克杰, 孙考祥, 王璟璐, 等. 氯原酸体外抗病毒作用研究[J]. 哈尔滨医科大学学报, 2001, 35(6): 430-432.
- [13] 马丙祥, 段晓颖, 王志超. 双花喷雾剂治疗小儿上呼吸道感染临床与实验研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2000, 20(9): 653.
- [14] 马振亚, 赵爱玲. 连翘种子挥发油抗流感病毒等病原微生物作用的实验研究[J]. 山西新医药, 1980, 9(11): 51.
- [15] 张欣. 中草药连翘、白芍水煎剂的抗病毒作用研究[J]. 天津医学院学报, 1990, 14(1): 35-38.
- [16] 田文静, 李洪源, 姚振江, 等. 连翘抑制呼吸道合包病毒作用的实验研究[J]. 哈尔滨医科大学学报, 2004, 38(5): 421-423.
- [17] 刘颖娟, 杨占秋, 肖红, 等. 中药连翘有效成分体外抗单纯疱疹病毒的实验研究[J]. 湖北中医学院学报, 2004, 6(1): 36-38.
- [18] 石钺, 石任兵, 陆蕴如, 等. RP-HPLC 测定银翘散抗流感病毒有效部位群中牛蒡子苷的含量[J]. 中国药理学杂志, 2003, 38(4): 293-295.
- [19] E Eich, H Pertz, M Kaloga, et al. (-)-Arctigenin as a lead structure for inhibitors of human immunodeficiency virus type-1 integrase[J]. Journal of medicinal chemistry, 1996, 39(1): 86-95.
- [20] 陈铁黄, 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): 323-326.
- [21] 王雪峰, 潘墨墨, 闫娟娟, 等. 牛蒡子提取物体外抗甲型流感病毒 FM1 株的实验研究[J]. 中医研究, 2007, 20(6): 18-21.
- [22] 王秀琴, 李洪源, 刘鑫妍, 等. 甘草抗病毒有效部位 (GD4) 体外抑制呼吸道合胞病毒作用的研究[J]. 中药材, 2006, 29(7): 692-694.
- [23] 何巧灵. 甘草酸体外抗柯萨奇 B3 病毒感染的研究[D]. 杭州: 浙江大学医学院, 2002: 19-20.
- [24] 孙芸, 阿依努尔·吾买尔, 燕雪花, 等. 甘草黄酮的提取方法及药理作用研究进展[J]. 新疆中医药, 2009, 27(1): 72-75.
- [25] Pliasunova OA, Il'ina TV, Ialu K, et al. The anti-HIV activity of glycyrrhizic acid penta-O-nicotinate[J]. Vestn Ross Akad Med Nauk, 2004(11): 42-6.
- [26] Baba M, Shigeta S. Antiviral activity of glycyrrhizin against varicella-zoster virus in vitro[J]. Antiviral Res, 1987, 7(2): 99-107.
- [27] 刘丽萍, 任翠爱, 赵宏艳. 甘草酸的免疫调节作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(6): 272-276.
- [28] 常雅萍, 毕无邪, 杨贵贞. 甘草多糖抗病毒作用研究[J]. 中国中药杂志, 1989, 14(4): 44-46.
- [29] 石钺, 石任兵, 刘斌, 等. 银翘散抗流感病毒有效部位群总黄酮含量的测定[J]. 北京中医药大学学报, 2001, 24(2): 44-45.
- [30] 石钺, 石任兵, 刘斌, 等. 银翘散抗流感病毒有效部位群中黄酮类成分研究[J]. 中国中药杂志, 2001, 26(5): 320-322.
- [31] 杨子峰, 黄碧松, 刘妮, 等. 银翘散抗甲 1 型流感病毒作用的实验研究[J]. 中国热带医学, 2005, 5(7): 1423-1425.
- [32] 周远鹏, 江京莉, 严少敏, 等. 银翘解毒片的药理研究[J]. 中成药, 1990, 12(1): 22-25.
- [33] 唐湘娟, 刘礼意, 陈显雄, 等. 银翘滴鼻剂药理作用的研究[J]. 湖南中医杂志, 1999, 15(2): 51-52.
- [34] Chu XL. Research progression antivirus of Chinese Traditional Medicine[J]. Chen J Trad Veter Sci, 2006(1): 33-36.
- [35] 陈俏妍, 李润峰, 杨春光, 等. 不同银翘散提取物体内抗甲型流感作用的比较[J]. 新中医, 2013, 54(10): 141-142.
- [36] Kobayashi M, Davis SM, Utsunomiya T, et al. Antiviral effect of ginglyo-san, a traditional Chinese herbal medicine, on influenza A2 virus infection in mice[J]. Am J Chin Med, 1999, 27(1): 53-62.
- [37] 吴莹, 李季倩, 孟建, 等. 犀角地黄汤合银翘散对流感病毒性肺炎小鼠炎症因子和自由基表达的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2012, 19(7): 28-30.
- [38] 吴莹, 金叶智, 孟建, 等. 犀角地黄汤合银翘散含药血清抑制流感病毒感染大鼠肺泡巨噬细胞致炎物质的研[J]. 中华中医药杂志, 2010, 25(12): 1974-1978.
- [39] 张晨月, 张舒, 吴莹, 等. 犀角地黄汤合银翘散对流感病毒感染的小鼠肺组织及大鼠肺微血管内皮细胞 ICAM-1 和 VCAM-1 表达的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2013, 29(9): 1685-1690.
- [40] 郝钰, 李季倩, 吴莹, 等. 犀角地黄汤合银翘散对流感病毒性肺炎小鼠肺病毒滴度和肺组织病理改变的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2010, 33(11): 739-744, 后插 1.
- [41] 张秀英, 王雪峰, 王思源, 等. 双表法对流感病毒感染鼠肺组织 MyD88 及 NF- κ B P65 mRNA 表达的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2014, 23(10): 1027-1030.
- [42] 张海婴, 王雪峰, 王思源, 等. 银翘散提取物对流感病毒性肺炎小鼠组织 TLR4 及 NF- κ Bp65 的影响[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(10): 2321-2323.
- [43] 时宇静, 赵晔, 姜晶, 等. 银翘散对流感病毒感染小鼠模型肺组织病毒载量和 IFN- γ mRNA 表达的影响[J]. 中国药理学杂志, 2008, 43(19): 1475-1478.
- [44] 朱露莎, 毕明刚, 李宇彬. 银翘散对流感病毒 FM1 感染胸腺缺陷小鼠血清中 INF- γ 、IgG 含量的影响[J]. 亚太传统医药, 2009, 5(2): 13-15.
- [45] 马荣, 邓景岳, 刘东华, 等. 银翘解毒口服液对流感病毒 FM1 感染 SCID 小鼠血清 TNF- α 及 TGF- β 1 含量的影响[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(18): 2488-2490.
- [46] 马荣, 许扬, 毕明刚, 等. 银翘解毒口服液对流感病毒 FM1 感染 SCID 小鼠 NK 细胞活性及 IFN- γ 含量的影响[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(11): 1456-1459.
- [47] 潘墨墨, 王雪峰, 岳志军, 等. 金银花、连翘配伍提取物体外抗甲型流感病毒 FM1 株的实验研究[J]. 甘肃中医学院学报, 2007, 24(2): 5-8.