

# 北柴胡茎叶总黄酮抗流感病毒的作用

冯煦, 王鸣, 赵友谊, 单宇, 董云发

(江苏省植物研究所 江苏省药用植物研究中心, 江苏南京 210014)  
中国科学院

**摘要:** 北柴胡(*Bupleurum chinense* DC.)茎叶总黄酮(TFB)0.09 g/kg 剂量组对乙型流感病毒(B/京防 98-76)感染小鼠具有明显的保护作用( $P < 0.05$ ), 0.03 g/kg 和 0.09 g/kg 剂量组能明显降低乙型流感病毒(B/京防 98-76)感染小鼠肺指数值( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 肺指数抑制率分别为 20.5% 和 25.4%。组织病理学检查结果表明, TFB 各剂量组与模型组比较, 肺部病变均明显减轻, 其中以 TFB 高剂量组肺部总体病变程度最轻, 疗效最好。

**关键词:** 北柴胡茎叶; 总黄酮; 乙型流感病毒

中图分类号: R965 文献标识码: A 文章编号: 1004-0978(2002)04-0015-04

**Effects of total flavonoid from the aerial part of *Bupleurum chinense* DC. on infected mice by influenza virus** FENG Xu, WANG Ming, ZHAO You-yi, SHAN Yu, DONG Yun-fa (The Jiangsu Provincial Key Laboratory for Medicinal Plant, Institute of Botany, Jiangsu Province and the Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2002, 11(4): 15–18

**Abstract:** Total flavonoid from the aerial part of *Bupleurum chinense* DC. (TFB) evidently has an inhibitory effect on influenza virus. The 0.09 g/kg group has an obvious protection to infected mice by the influenza B virus (B/jingfan 98-76) ( $P < 0.05$ ). The 0.03 g/kg and 0.09 g/kg groups could remarkably reduce the value of lung index of infected mice, the inhibitory rates of which are 20.5% and 25.4% respectively ( $P < 0.05$  and  $P < 0.01$ ). The results of histopathological observation show that, comparing with the model groups, the lung pathological processes of the infected mice all were remarkably relieved in all of the dosage groups of the total flavonoid, among which the curative effect of the high dosage group (0.09 g/kg) is the most evident.

**Key words:** the aerial part of *Bupleurum chinense* DC.; total flavonoid; influenza B virus

柴胡为常用中药, 具解表退热, 疏肝解郁功效<sup>[1]</sup>。北柴胡(*Bupleurum chinense* DC.)为伞形科(Umbelliferae)柴胡属(*Bupleurum* L.)植物, 收载于中国药典, 为药用柴胡的主要种源。北柴胡茎叶总黄酮(total flavonoid from *Bupleurum chinense* DC., 简称 TFB)是江苏省·中国科学院植物研究所从北柴胡茎叶中提取的主要有效部位, 其主要有效成分为槲皮素(Quercetin)、异鼠李素(Iisorhamnetin)、芦丁(Rutin)和水仙甙(Narcissin)等。本文报道了其体内抗乙型流感病毒作用的研究结果。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

1.1.1 实验材料 北柴胡茎叶总黄酮 TFB 由作者自提, 含量为 82.3%, 批号: 010608, 使用前用 0.5%

CMC-Na 配成所需浓度。

1.1.2 实验动物和病毒 昆明(KM)种小鼠, 由南京医科大学实验动物中心提供, 合格证号: 苏动质 97001; 乙型流感病毒 B/京防 98-76, 由中国预防医学科学院病毒研究所提供。

1.1.3 实验药品 利巴韦林胶囊, 浙江一新制药有限公司产品, 批号 010105; 抗病毒颗粒, 四川光大制药有限公司, 批号 000529; 乙醚, 南京化学厂, 批号 990726; CMC-Na, 广州化学制剂站, 批号 990418; 氯化钠, 太仓化工厂, 批号 990901。

### 1.2 方法

1.2.1 实验仪器 FA1004 电子天平, 上海天平厂

收稿日期: 2002-09-10

基金项目: 江苏省应用基础研究基金资助项目(BJ000035)

作者简介: 冯煦(1962-), 男, 江苏南通人, 在职博士生, 研究员, 主要从事天然药物化学和植物资源学方面的研究工作。

产;净化工作台,苏州净化设备厂产;孵箱,上海分析仪器厂产。

1.2.2 实验条件 给药前后,实验小鼠分笼饲养,喂全价颗粒饲料(南京宏大饲料垫料厂提供),自由饮水,室温( $22 \pm 2$ )℃,湿度55%~65%。

1.2.3 乙型流感病毒感染小鼠半数致死( $LD_{50}$ )滴定试验<sup>[2]</sup> 取小鼠49只,体重11~13g,雌雄兼用,随机分7组,每组7只。取鸡胚增毒3次的病毒尿囊液,以10倍稀释至 $1 \sim 10^{-1}$ 、 $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 和 $10^{-6}$ 浓度,每组滴1个病毒浓度,各组小鼠在乙醚浅麻醉下,以病毒尿囊液50μL滴鼻,观察14d内小鼠死亡只数,按Reed Muench法计算 $LD_{50}$ 。 $LD_{50}$ 为2.58mg/kg。

1.2.4 血凝实验<sup>[3]</sup> 取36孔微孔板,每孔加入生理盐水0.25mL,第1孔加入0.1浓度的病毒尿囊液0.25mL。混匀后依次取0.25mL放入第2孔,稀释至第9孔,第10孔不加病毒尿囊液作对照,每孔加入0.5%鸡红细胞0.25mL,轻轻摇匀后于室温放置2h,观察记录结果。血凝滴度为640。

1.2.5 抗病毒实验<sup>[4]</sup>

1.2.5.1 对乙型流感病毒(B/京防98-76)感染小鼠的保护作用 取KM小鼠140只,体重11~13g,雌雄兼用,随机分7组,每组20只。每组处理如下:

(1) 正常对照组:0.5% CMC-Na溶液;(2)病毒对照组:0.5% CMC-Na溶液;(3)利巴韦林胶囊组:0.075g/kg;(4)抗病毒颗粒组:3.0g/kg;(5)TFB小剂量组:0.01g/kg;(6)TFB中剂量组:0.03g/kg;(7)TFB大剂量组:0.09g/kg。

上述各组动物均灌胃给药,灌胃容量10mg/kg,连续6d,给药后第2天,各组小鼠在乙醚浅麻醉下,

以病毒尿囊液滴鼻感染,每鼠50μL(20个 $LD_{50}$ 攻击量),观察小鼠感染后的发病症状,记录感染后15d内小鼠的死亡只数。

1.2.5.2 TFB对乙型流感病毒感染小鼠肺指数的影响 取KM小鼠60只,体重12~14g,雌雄兼用,随机分6组,每组10只。每组处理如下:

(1) 病毒对照组:0.5% CMC-Na溶液;(2)利巴韦林胶囊组:0.075g/kg;(3)抗病毒颗粒组:3.0g/kg;(4)TFB小剂量组:0.01g/kg;(5)TFB中剂量组:0.03g/kg;(6)TFB大剂量组:0.09g/kg。

上述各组动物均灌胃给药,灌胃容量10mg/kg,每天1次,连续5d,于给药后第2天,各组小鼠在乙醚浅麻醉下,以病毒尿囊液滴鼻感染,每鼠15个 $LD_{50}$ 攻击量。实验前禁食(不禁水),实验当日各组小鼠称重,脱颈椎处死,解剖观察肺部病变,取全肺称重,计算各鼠肺指数值和肺指数抑制率。

1.2.6 病理组织学检查方法 实验结束,处死小鼠,取出肝脏,观察其组织病理学改变。小鼠肝脏经10%甲醛溶液固定,常规取材,脱水,石蜡包埋,制片(4μm厚),HE染色,在光学显微镜下阅片。

1.2.7 实验统计方法 资料统计采用T检验和卡方检验。

## 2 结果

### 2.1 对乙型流感病毒感染小鼠的保护作用

北柴胡茎叶总黄酮对乙型流感病毒感染小鼠死亡的保护作用结果见表1。

结果显示:TFB 0.09g/kg剂量组对乙型流感病毒感染小鼠死亡具有明显的保护作用,死亡保护率为65%(P<0.05),且小鼠的平均存活天数与抗病

表1 北柴胡茎叶总黄酮对乙型流感病毒感染小鼠死亡的保护作用

Table 1 The protection of total flavonoid from the aerial part of *Bupleurum chinense* DC. to infected mice by influenza B virus

组别 <sup>1)</sup> Group <sup>1)</sup>	剂量 Dose (g/kg)	动物数 No. of mice (n)	死亡数 No. of death(n)	死亡率 Percentage of death (%)	保护率 Rate of protection (%)	平均存活天数 <sup>2)</sup> Average survival days <sup>2)</sup> (d)(X±SD)
正常对照组 Normal	-	20	0	0	-	-
病毒对照组 Control	-	20	15	75	-	$10.4 \pm 3.59$
利巴韦林胶囊组 Ribavirin capsule group	0.075	20	3	15**	85	$13.9 \pm 2.70^{**}$
抗病毒颗粒组 Anti-virus granule group	3.0	20	5	25**	75	$13.1 \pm 3.42^*$
TFB 小剂量组 The low dose group of TFB	0.010	20	14	70	30	$11.2 \pm 3.23$
TFB 中剂量组 The middle dose group of TFB	0.030	20	11	55	45	$12.0 \pm 3.25$
TFB 大剂量组 The high dose group of TFB	0.090	20	7	35*	65	$13.2 \pm 2.94^*$

<sup>1)</sup> TFB: 北柴胡茎叶总黄酮 Total flavonoid from the aerial part of *Bupleurum chinense* DC. <sup>2)</sup> 与病毒对照组比较: \* P < 0.05, \*\* P < 0.01 comparing with control: \* P < 0.05, \*\* P < 0.01.

毒颗粒组相近。

## 2.2 乙型流感病毒感染小鼠的病理组织学观察

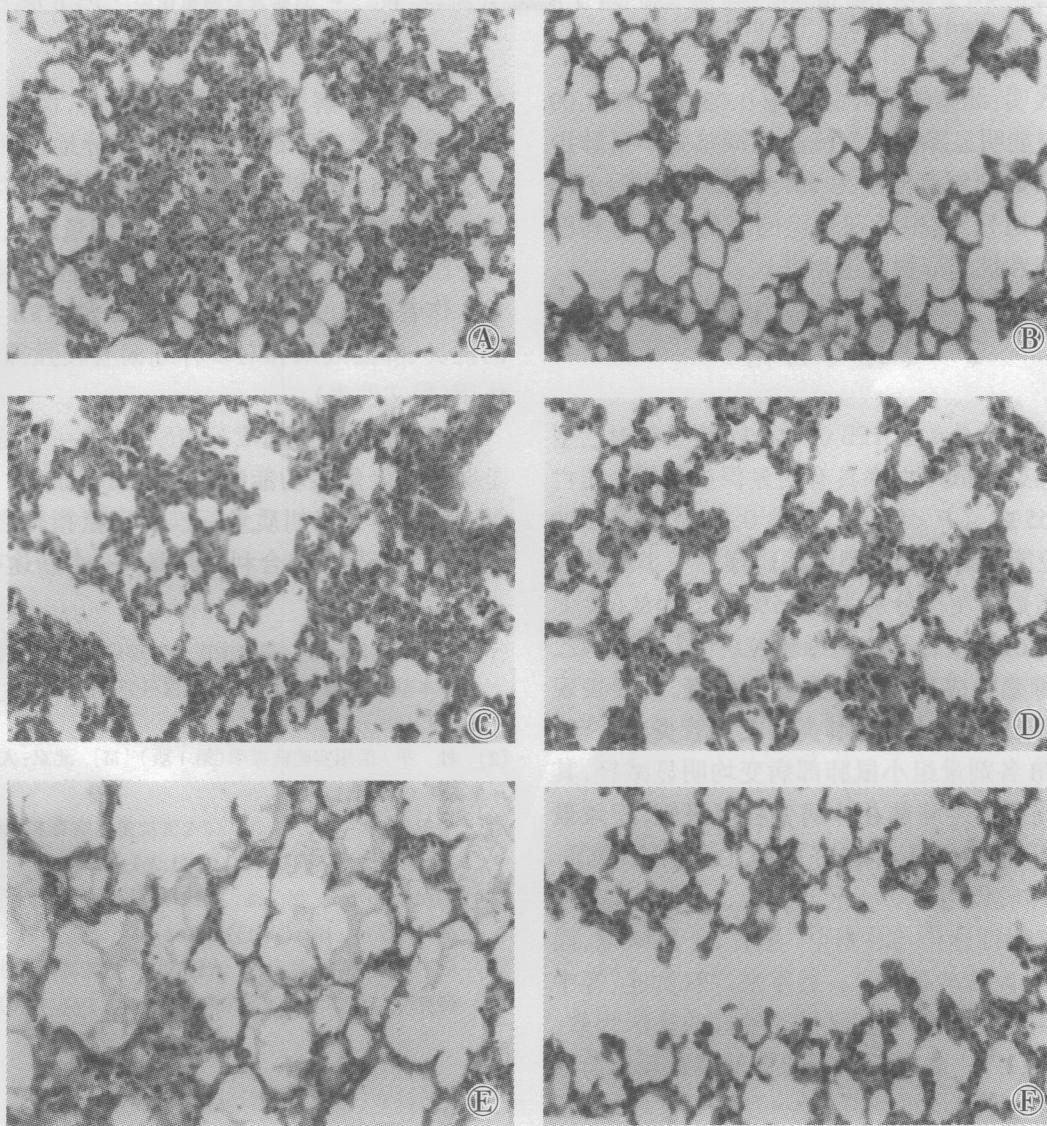
乙型流感病毒感染小鼠的病理组织学观察结果见图1。

结果表明,乙型流感病毒感染成功复制小鼠肺部病变,主要表现为重度间质性肺炎、小叶性肺炎和

支气管炎,而北柴胡茎叶总黄酮各剂量组与模型组比较,小鼠肺部病变均明显减轻,其中以TFB高剂量组的小鼠肺部总体病变程度最轻,疗效最好。

## 2.3 对乙型流感病毒感染小鼠肺指数的影响

北柴胡茎叶总黄酮对乙型流感病毒感染小鼠肺指数的影响结果见表2。



A: 模型组间质性肺炎 The interstitial pneumonia of control; B: 利巴韦林胶囊组间质性肺炎 The interstitial pneumonia of ribavirin capsule group; C: 抗病毒颗粒组间质性肺炎 The interstitial pneumonia of anti-virus granule group; D: TFB 小剂量组( $0.01\text{ g/kg}$ )间质性肺炎 The interstitial pneumonia of the low dose group of TFB ( $0.01\text{ g/kg}$ ); E: TFB 中剂量组( $0.03\text{ g/kg}$ )间质性肺炎 The interstitial pneumonia of the middle dose group of TFB ( $0.03\text{ g/kg}$ ); F: TFB 大剂量组( $0.09\text{ g/kg}$ )间质性肺炎 The interstitial pneumonia of the high dose group of TFB ( $0.09\text{ g/kg}$ )。

图1 乙型流感病毒感染小鼠的肺部组织病理学观察

Fig. 1 The lung histopathological observation of infected mice by influenza B virus

表2 北柴胡茎叶总黄酮对乙型流感病毒感染小鼠肺指数的影响

Table 2 The influence of total flavonoid from the aerial part of *Bupleurum chinense* DC. on the lung index of infected mice by influenza B virus

组别 <sup>1)</sup> Group <sup>1)</sup>	剂量(g/kg) Dose	动物数(n) No. of mice	肺指数值(g/g) Lung index ( $X \pm SD$ )	抑制率 <sup>2)</sup> (%) Inhibitory rate <sup>2)</sup>
病毒对照组 Control	-	10	0.0129 ± 0.0014	-
利巴韦林胶囊组 Ribavirin capsule group	0.075	10	0.0092 ± 0.0010**	28.7
抗病毒颗粒组 Anti-virus granule group	3.0	10	0.0094 ± 0.0017**	27.3
TFB 小剂量组 The low dose group of TFB	0.010	10	0.0114 ± 0.0021	11.8
TFB 中剂量组 The middle dose group of TFB	0.030	10	0.0103 ± 0.0028*	20.5
TFB 大剂量组 The high dose group of TFB	0.090	10	0.0096 ± 0.0023**	25.4

<sup>1)</sup> TFB: 北柴胡茎叶总黄酮 Total flavonoid from the aerial part of *Bupleurum chinense* DC. <sup>2)</sup> 与病毒对照组比较: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ . comparing with control: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ .

结果表明: 北柴胡茎叶总黄酮 0.03 g/kg 和 0.09 g/kg 剂量组能明显降低乙型流感病毒感染小鼠肺指数值。肺指数抑制率分别为 20.5% 和 25.4% ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。其中高剂量组的降低效果与利巴韦林胶囊组和抗病毒颗粒组相近。

### 3 小结与讨论

北柴胡茎叶总黄酮 TFB 0.09 g/kg 剂量组对乙型流感病毒感染小鼠死亡率具有明显保护作用, 死亡保护率为 65%, ( $P < 0.05$ )。TFB 0.03 g/kg 和 0.09 g/kg 剂量组能明显降低乙型流感病毒感染小鼠肺指数值, 肺指数抑制率分别为 20.5% 和 25.4% ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 接近于抗病毒颗粒组(27.3%)。乙型流感病毒感染成功复制小鼠肺部病变, 主要表现为重度间质性肺炎, 小叶性肺炎和支气管炎, 与模型组比较, TFB 各剂量组小鼠肺部病变均明显减轻, 其中以 TFB 高剂量组肺部总体病变程度最轻, 疗效最好。综上所述: TFB 具有较好的抗乙型流感病毒(B/京防 98-76)作用。

呼吸道病毒感染与中医学“感冒、外感咳嗽、淫气喘息”等中医病名有关<sup>[5]</sup>。近年来, “双黄连”等中药在治疗病毒感染疾病中取得了较好的临床疗效。说明从中药宝库中寻找抗病毒药物是很有开发前景

的。柴胡为具解表功用的常用中药, 但多用其根部入药(药典用地下部分), 只有部分地区用其全草。本实验表明北柴胡茎叶中的黄酮成分具有较强的抗流感病毒作用, 其茎叶总黄酮高剂量组抗病毒作用优于已知的抗病毒西药利巴韦林胶囊和抗病毒颗粒。作者另外的实验研究结果证实: TFB 具有较好的抗炎、降温效果和对多种细菌有较强抑制或杀灭作用(另文发表)。

TFB 能抗流感病毒等病原体, 进一步确认了 TFB 是柴胡茎叶解表功能的药效物质基础, 对其进行含量测定可作为柴胡质量标准的定量指标之一。TFB 的作用为柴胡的综合利用开辟了一个新途径。

#### 参考文献:

- [1] 宋立人. 柴胡[A]. 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草(第5册)[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1999. 909-919.
- [2] 杜平. 医用实验病毒学(第1版)[M]. 北京:人民军医出版社, 1985. 111-114.
- [3] 朱萱萱, 徐立, 方泰惠. 肺毒清抗菌抗病毒实验研究[J]. 中药新药与临床药理, 2001, 4(12): 263-265.
- [4] 刘劲松, 齐方阜, 贺磊. 荆防口服液抗病毒作用研究[J]. 中药药理与临床, 1998, 14(1): 41-44.
- [5] 欧敏, 杜怀堂, 郭元吉. 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.