

## • 研究报告 •

## 白藜生品与炮制品体外抗内毒素作用的比较研究

张少桦, 孟飞, 杨珊珊, 宋学立 (解放军 960 医院淄博院区药剂科, 山东 淄博 255300)

**[摘要]** 目的 对白藜生品与炮制品进行初步对比研究分析, 拟筛选出白藜体外对内毒素拮抗作用强的样品。方法 利用鲎试剂与内毒素产生凝集反应的原理, 采用一系列不同浓度样品破坏凝集反应, 以初步筛选白藜体外抗内毒素的作用。结果 白藜炮制品在浓度为 1 : 2 000 时, 体外仍有抗内毒素作用。结论 经炮制后白藜的体外抗内毒素作用强于白藜生品。

**[关键词]** 白藜; 炮制; 抗内毒素

**[中图分类号]** R961

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1006-0111(2019)03-0266-02

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.03.015

## Comparative study on anti-endotoxins of crude and processed *Ampelopsis radix in vitro*

ZHANG Shaohua, MENG Fei, YANG Shanshan, SONG Xueli (Department of Pharmacy, No. 960 Hospital of PLA, Zibo 255300, China)

**[Abstract]** **Objective** To screen the samples of stronger antagonism to anti-endotoxin *in vitro* from *Ampelopsis radix* through a preliminary comparative analysis on before and after processing of *Ampelopsis radix*. **Methods** The principle of agglutination produced by the limulus reagent and endotoxin was used. Different concentration samples were used to destroy the agglutination reaction so as to initially screen for the effect of *in vitro* anti-endotoxin. **Results** The processing products of *Ampelopsis radix* still had *in vitro* anti-endotoxin activity at the 1 : 2 000 concentration. **Conclusion** *Ampelopsis radix* after processing had stronger *in vitro* anti-endotoxin effect.

**[Key words]** *Ampelopsis radix*; processed; anti-endotoxins

白藜最早收载于《神农本草经》,多用于治疗皮肤创伤。《五十二病方》中记录,对于化脓性疾病多用白藜为主。2015年版《中华人民共和国药典》(简称《中国药典》)收载的白藜为葡萄科植物白藜 *Ampelopsis japonica* (Thunb.) Vlakino 的干燥块根。白藜早期用于治疗疮痍肿毒、烧烫伤,具有抗菌、免疫调节、敛疮生肌及促进创面愈合等作用,随着对白藜药理作用和临床应用研究的不断深入,白藜还具有抗菌、抗肿瘤、免疫调节、兴奋、抑制毛发生长和敛疮生肌促进溃疡面愈合<sup>[1]</sup>等作用。中药炮制是按照中医药理论,根据药材自身的性质以及调剂、制剂和临床应用的需要,所采取的一项独特的制药技术。笔者旨在检测白藜生品与炮制品体外抗内毒素作用,为研发白藜的药用价值提供科学依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 药材

白藜,产地:四川,批号:150301,生产厂家:山东鲁安中药饮片有限公司。

#### 1.2 试剂

细菌内毒素工作标准品(湛江安度斯生物有限公司,10 EU/支,批号:1609090);鲎试剂(厦门鲎试剂生物科技股份有限公司,0.1 ml/支,灵敏度 0.5 EU/ml,批号:170413);细菌内毒素检查用水(湛江安度斯生物有限公司,内毒素含量 < 0.003 EU/ml,批号:1609260),其他试剂均为分析纯。

#### 1.3 仪器

旋转蒸发器(RE-201D,郑州博科仪器设备有限公司);离心机(BFX4-320,白洋离心机厂);电热恒温水浴锅(HH-2,北京中兴伟业仪器有限公司);电热恒温培养箱(SC303,浙江省嘉兴市电热仪器厂);100~1 000  $\mu$ l 移液枪、1.0 ml 枪头、1.5 ml 带盖离心管均购自上海求精生化试剂有限公司;试管、吸管等玻璃仪器均按《中国药典》“细菌内毒素检查法”项下规定处理。

**[基金项目]** 原济南军区联勤部司令部课题(CJN15J052)

**[作者简介]** 张少桦,硕士研究生,药师,研究方向:中药制剂研究, Tel: (0533)6552157, 17615698160, Email: 907496653@qq.com

**[通讯作者]** 宋学立,硕士,副主任药师, Tel: (0533) 6552149, Email: blacket1966@163.com

## 1.4 方法

### 1.4.1 样品原液的制备

白藜生品提取液:取药材适量,加8倍量水煎煮2次,每次0.5h,过滤,合并2次滤液,滤液浓缩;向浓缩液中缓慢滴加乙醇(使含醇量达到50%),在4℃静置过夜;混合液离心,取上清液;上清液回收乙醇,得浓缩浸膏;100℃灭菌30min;即得药材样品原液。

白藜炮制品提取液:取烘干的药材,研磨,过5目筛,炒焦。其他制备过程同白藜生品提取液。

### 1.4.2 抗内毒素实验

将细菌内毒素工作标准品用水溶解稀释成2EU/ml的溶液用于细菌内毒素检查。将白藜生药样品的原液依次稀释为1:1(原液)、1:100、1:200、1:400、1:600、1:800、1:1000;白藜炮制样品的原液依次稀释为1:1(原液)、1:100、1:200、1:400、1:600、1:800、1:1000、1:1500、1:2000、1:2500、1:3000。

分别于1.5ml带盖离心管内加样品液和细菌内毒素工作标准品液各0.5ml,摇匀,置(37±2)℃水浴

温热30min;冷却至室温后,取0.1ml加入到用0.1ml细菌内毒素检查用水溶解的鲎试剂中,用封口膜封口,摇匀,于(37±1)℃水浴温热(60±1)min。

另将工作标准品液(浓度:2EU/ml)稀释成1EU/ml溶液,取0.1ml加入到0.1ml鲎试剂中作为阳性对照管;取0.1ml检查用水加入到0.1ml鲎试剂中作为阴性对照管;与样品管同时于(37±1)℃水浴温热(60±1)min。

### 1.5 结果判定

结果按《中国药典》细菌内毒素检查法判断,若阳性对照管形成坚实凝胶且阴性对照管为流动液,则判断该结果可信;温育后将安瓿轻轻取出,若温育后液体仍可流动或缓缓倒置180°时,凝胶不能保持完整并从管壁脱落者判为有拮抗内毒素作用;若形成坚实凝胶或有一管倒转不脱落者判为无拮抗内毒素作用。

## 2 结果

白藜生品与炮制品不同稀释倍数体外抗内毒素实验结果见表1。

表1 白藜生品与炮制品不同稀释倍数体外抗内毒素实验结果

白藜	稀释倍数										
	1:1	1:100	1:200	1:400	1:600	1:800	1:1000	1:1500	1:2000	1:2500	1:3000
生品	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
炮制品	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+

注:“-”表示无凝胶形成;“+”表示有凝胶形成

实验结果表明:白藜生品与炮制品体外都有一定的抗内毒素作用,但白藜炮制后的抗内毒素作用更强。

## 3 讨论

### 3.1 细菌内毒素实验

细菌内毒素实验是通过鲎试剂与内毒素产生凝集反应的原理,此实验迅速、经济、所需样品量少,操作过程工作量小,灵敏性已被证实,在防止产品中因存在细菌内毒素而导致人或动物发热、休克和死亡具有重要价值。实验结果表明:加入一定量的中药提取物后,凝集反应被抑制;中药提取物浓度的高低破坏凝集反应,体现了中药抗内毒素的效果,常用于抗内毒素药物的初选<sup>[2-4]</sup>。

### 3.2 炮制

《历代中药炮制法汇典》中载有白藜的炮制方法,有火炮(宋《总录》)和炒制(宋《疮疡》)两种。炮制的作用:诸疮不敛,俱可为末敷之,能生肌止痛(清《正义》)。闵凡印等<sup>[5]</sup>以白藜的体外抗菌作用作为药效学指标,进行了体外抗菌实验,探讨了古代白藜

的炒制炮制法对其药效学的影响。实验结果表明,白藜经炒制后其体外抗菌作用比生白藜的体外抗菌作用增强,其中又以炒焦的作用最好。除闵凡印等的报道,查阅近几年文献未发现与白藜炮制相关的文章。本研究结合现代医药学理论及文献,以炮制后的白藜为主要原料,制备出一种易于使用、透气性好、对创面愈合具有较好促进作用的喷膜剂,该剂型兼顾了喷雾剂和膜剂的双重优点。

### 【参考文献】

- [1] 苗晋鑫,白明,郭晓芳,等.白藜对大、小鼠烫伤模型的影响[J].中药药理与临床,2012,19(18):86-89.
- [2] 兰新财,缪雪荣,徐登基,等.91味中药及复方体外抗内毒素实验研究[J].中医医药杂志,2011(3):40-42.
- [3] 刘志峰,李桂生,傅风华,等.8种中药注射剂体外抗内毒素作用的观察[J].中草药,2002,33(1):58-59.
- [4] 常明向,章晶,陈科力.单味中药及活性成分体外抗内毒素实验研究[J].中国药师,2007,10(1):18-20.
- [5] 闵凡印,周一鸿,宋学立,等.白藜炒制前后的体外抗菌作用[J].中国中药杂志,1995,20(12):728-730.

【收稿日期】 2018-11-22 【修回日期】 2019-01-18

【本文编辑】 李睿曼