

超滤工艺清开灵注射液解热抗炎作用研究

姜翠莲, 孙建宁^{2*}, 张硕峰², 吴金英², 贾占红²

(1. 北京中医药大学药厂, 北京 101300; 2. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102)

[摘要] 目的: 探讨超滤工艺对清开灵注射液解热抗炎作用的影响。方法: 以解热、抗炎为主要药效学指标, 观察不同剂量超滤工艺产品和原工艺产品对大肠杆菌内毒素(LPS)致家兔体温升高的抑制作用, 对角叉菜胶致大鼠足跖肿胀急性炎症的影响, 以及对大鼠棉球肉芽肿慢性炎症的影响。结果: 超滤工艺组和原工艺组在 LPS 致热 1 h 后即表现出显著解热作用, 与模型组比较有显著性差异, 超滤工艺组 $P < 0.01$, 原工艺组 $P < 0.05$, 组间无显著性差异; 超滤工艺各组和原工艺大剂量组在致炎后 2 h 有明显抑制大鼠足跖肿胀的作用, 与模型组比较, 有显著性差异, $P < 0.05$, 组间无显著性差异; 剂量为 $14 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 超滤工艺组和同等剂量原工艺组棉球湿重与模型组比较, 具有显著性差异, $P < 0.01$, $P < 0.05$, 棉球干重组间有极显著性差异, $P < 0.01$ 。结论: 超滤工艺制备的清开灵注射液与原工艺产品比较, 解热抗炎作用相似, 在抑制棉球肉芽肿慢性炎症方面比原工艺产品显示出更强的作用, 提示超滤工艺基本可行。

[关键词] 清开灵注射液; 超滤工艺; 解热抗炎

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)04-0105-04

The effect on antipyretic and Anti-inflammatory of Qingkailing Ingection processed by ultrafiltration

JIANG Cui-lian¹, SUN Jian-ning^{2*}, ZHANG Shuo-feng², WU Jing-ying², JIA Zhan-hong²

(1. Manufacturer of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 101300, China;

2. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect on antipyretic and anti-inflammatory of Qingkailing Ingection (QKL) processed by ultrafiltration (UF). **Method:** By using antipyretic and anti-inflammatory as the major

[收稿日期] 2009-09-27

[基金项目] 北京中医药大学校级课题 (2006-X68)

[通讯作者] * 孙建宁, Tel: (010) 84738627; E-mail: jn-sun@ sina.com

草素都具有治疗作用, 可恢复前列腺素间的动态平衡。

在前期实验中, 作者还观察三七总皂苷、三七素、大叶茜草素能改善置 Cu-IUD 家兔血液流变学性, 降低子宫局部组织中 t-PA 含量而达到止血的目的^[6,7], 表明三七总皂苷、三七素、大叶茜草素是三七、茜草治疗宫环出血的主要有效部位。

[参考文献]

- [1] 尤昭玲, 付灵梅. 益气化瘀法对置 CuIUD 家兔子宫组织 6-K-PGF₁ 和 TXB₂ 含量的影响[J]. 中国中医药科技, 2000, (5): 322.
- [2] 周玉玲. 宫内节育器影响子宫出血机理的研究现状

[J]. 中国计划生育学杂志, 1999, (9): 379.

- [3] 彭书玲, 郭兆安. 三七总皂苷的作用机制研究进展[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2008, 15(1): 63.
- [4] 张喜平, 齐丽丽, 刘达人. 三七及其有效成分的药理作用研究现状[J]. 医学研究杂志, 2007, 36(4): 96.
- [5] 杨胜利, 刘发. 茜草的药理作用及应用[J]. 实用中西医结合杂志, 1995, 8(8): 588.
- [6] 尤昭玲, 栾继红, 申玉华, 等. 化瘀止血方有效部位对置铜宫内节育器家兔血液流变学的影响[J]. 湖南中医学院学报, 2004, 24(6): 4.
- [7] 陈玉华, 申玉华, 尤昭玲, 等. SQ 复方有效部位对置 Cu-IUD 家兔子宫匀浆 t-PA 的影响[J]. 湖南中医杂志, 2005, 21(3): 118.

pharmacodynamic indicators, to investigate the effect of QKL on inhibition of rabbit increasing temperature induced by LPS, of rat hind paw edema induced by carrageenan and of rat cotton ball granuloma. **Result:** Both the group of QKL processed by UF and the group of original procedure have obvious effect on antipyretic after 1 hour. Compared with model group, $P < 0.01$, $P < 0.05$; They have obvious effect on anti-inflammatory after 2 hour. Compared with model group, $P < 0.05$, There is no significant difference between the two groups; $14 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ dose group of QKL processed by UF and group of original procedure have inhibition of proliferative inflammation. Compared with model group, $P < 0.01$, $P < 0.05$, There is significant difference on dry weight of cotton balls between the two groups, $P < 0.01$. **Conclusion:** Compared with QKL processed by original procedure, QKL processed by UF has similar action of antipyretic and anti-inflammatory, to some extent, stronger effects.

[Key words] Qingkailing Ingection; ultrafiltration; antipyretic and anti-inflammatory

清开灵注射液具有清热解毒、化痰通络、醒神开窍的功能,临床用于急性肝炎、上呼吸道感染、肺炎,脑血栓形成、脑出血等疾病出现热病,神昏,中风偏瘫,神志不清症候的治疗^[1]。为确保清开灵注射液的临床用药安全,在生产过程中必须除去热原,我们尝试在除热原工序增加超滤工艺,利用分子筛原理去除热原,以提高清开灵注射液的合格率。但超滤工艺是否会影响清开灵注射液的药效,本研究选择解热、抗炎两个主要药效学指标,与原工艺产品进行对比,观察超滤工艺产品对解热、抗炎作用的影响,同时对比两种工艺产品的指标成分变化和热原检查情况,以探讨超滤工艺应用的可行性。

1 材料

1.1 动物 大耳白兔,雄性,体重 $1.5 \sim 2.2 \text{ kg}$,合格证号: SCXK(京) 2007-0002,由北京医科大学实验动物室提供。标准家兔颗粒饲料,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供。SD 大鼠,雄性,体重 $160 \sim 180 \text{ g}$,由北京维同利华实验动物技术有限公司提供,合格证号 SCXK(京) 2007-0001。

1.2 药品与试剂 超滤工艺清开灵注射液由北京中医药大学药厂提供(批号试 1~试 6);原工艺清开灵注射液由北京中医药大学药厂提供(批号 710306, 711201, 711202, 711206, 711207, 711208)。大肠杆菌内毒素(lipopolysaccharides, LPS):美国 Sigma 公司,型号 L2880;1%角叉菜胶由辽宁省药物研究所分装;水合氯醛由天津福晨化学试剂厂提供(批号 20040628);庆大霉素由华北制药股份有限公司提供(批号 E0511303)。

1.3 仪器 MC-3L 计算机数字式体温计,欧姆龙(中国)有限公司;HZQ-C 空气浴振荡器,哈尔滨市东明医疗仪器厂;AGE-220 电子天平,SHIMADZU

CORPORATION;DF 206 电热鼓风干燥箱,北京京通仪器厂。

2 方法

2.1 对 LPS 所致家兔体温升高的影响

2.1.1 LPS 配制 称取 10 mg LPS 置于试管内,加入 0.7 mL 生理盐水,置于振荡器上振荡 15 min 充分混匀,稀释至 40 mL ,按 $1 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 耳缘 iv 给药,即内毒素 $25 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

2.1.2 动物的筛选 大耳白兔放置在 (22 ± 2) 洁净动物房内,湿度 $40\% \sim 70\%$,自然光照,自由进食与饮水,适应 7 d ,并连续 3 d 适应性测量家兔直肠温度,以其均值作为基础体温,选择体温波动范围在 0.5 以内、基础体温在 $38.0 \sim 39.0$ 的动物。

2.1.3 动物分组及给药 将合格动物随机分为 6 组:对照组,模型组,超滤工艺(批号试 3) $3 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组(相当于临床人用量的 3 倍),超滤工艺(批号:试 3) $6 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组,原工艺(批号 710306) $3 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组,原工艺(批号 710306) $6 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组,每组 6 只。

除对照组外,其余各组耳缘 iv LPS $25 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$,对照组注射等容量灭菌生理盐水。造模后即刻给药,各给药组耳缘 iv 给予相应剂量的清开灵注射液;对照组按 $6 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 注射灭菌生理盐水。

2.1.4 体温检测 分别于给药后 $1, 2, 3 \text{ h}$ 检测肛温^[2],以不同时间所测体温与基础体温之差作为体温变化值(T)。实验过程中室温控制在 (25 ± 1) 。

2.2 对角叉菜胶致大鼠足跖肿胀的影响

2.2.1 动物分组及给药 将大鼠随机分为 5 组:模型组,超滤工艺(批号,试 3) $7 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组(相当于临床人用量的 7 倍),超滤工艺(批号,试 3) $14 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,原工艺(批号,710306) $7 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,原工艺(批

号, 710306) $14 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$, 每组 12 只。

除模型组按 $14 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ ip 生理盐水外, 其他各给药组分别按 $14 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $7 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ ip 相应药物, 每日 1 次, 3 d。

2.2.2 操作方法 实验前测量左后足跖周长, 在末次给药后 30 min, 在大鼠左后足跖部皮内注射 1% 角叉菜胶 0.1 mL, 于致炎后 30 min, 1, 2, 3, 4, 6 h 用软皮尺测量左后足跖周长, 按公式计算肿胀率。

肿胀率 = (药后足跖周长 - 药前足跖周长) / 药前足跖周长 $\times 100\%$

2.3 对大鼠棉球肉芽肿的影响

2.3.1 动物分组及给药 除连续给药 14 d 外余同 2.2.1。

2.3.2 造模 用水合氯醛 ($350 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 将动物麻醉, 于腹部正中作一开口, 用止血钳剥离皮肤至腹股沟处, 将预先高压灭菌并加入庆大霉素 0.1 mL 的 50 mg 棉球植入腹股沟处, 缝合皮肤, 待动物清醒后开始给药。

2.3.3 取材 末次给药后 1 h, 断椎处死大鼠, 打开腹部皮肤, 仔细剥离肉芽肿, 置于电子天平上称重, 即为肉芽肿湿重, 将棉球置于 110 °C 烘箱中, 干燥 48 h, 取出称量即为干重。分别用肉芽肿湿重、干重减去棉球重作为肉芽多少的指标。

2.4 指标成分检测和热原检查 按《中国药典》2005 年版一部清开灵注射液项下和附录热原检查法项下依法检查。

2.5 统计方法 数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 以 SPSS12.0 统计学软件统计, 组间比较采用 *t* 检验。

3 结果

3.1 对 LPS 致家兔体温升高的抑制作用 造模后家兔体温明显上升, 1 h 到达高峰, 并持续作用 2 h。各组 iv 给药对内毒素所致发热家兔均有不同程度的解热作用, 1 h 后即表现出显著解热作用, 与模型组比较有显著性差异 ($P < 0.01$, $P < 0.05$), 超滤工艺 $3 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组一直持续 3 h 仍有明显解热作用, 与模型组比较, 有显著性差异, 而两组之间无显著性差异, 结果见表 1。

表 1 清开灵注射液对 LPS 所致家兔体温升高的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	剂量 $/\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}$	给药后不同时间点体温增高值/ °C		
		1 h	2 h	3 h
模型	-	1.66 ± 0.59	0.60 ± 0.65	0.66 ± 1.10
对照	-	$-0.30 \pm 0.58^{3)}$	$0.27 \pm 0.56^{1)}$	0.08 ± 0.17
超滤工艺	6	$0.20 \pm 0.72^{2)}$	-0.11 ± 0.82	-1.03 ± 1.74
	3	$0.27 \pm 0.53^{2)}$	$-0.63 \pm 0.85^{1)}$	$-1.13 \pm 0.77^{1)}$
原工艺	6	$0.76 \pm 0.58^{1)}$	0.10 ± 1.20	-0.78 ± 1.72
	3	$0.82 \pm 0.50^{1)}$	0.32 ± 0.47	-0.16 ± 0.93

注: 与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, ³⁾ $P < 0.001$ (表 2 ~ 表 3 同)。

3.2 对角叉菜胶致大鼠足跖肿胀的抑制作用 各给药组对角叉菜胶致大鼠足跖肿胀均有不同程度的抑制作用, 结果见表 2。

表 2 清开灵注射液对角叉菜胶致大鼠足跖肿胀的抑制作用 ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

组别	剂量 $/\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}$	给药后不同时间点足肿胀率/%					
		0.5 h	1 h	2 h	3 h	4 h	6 h
模型	—	23.00 ± 7.41	27.03 ± 5.80	45.28 ± 9.77	42.53 ± 11.81	28.57 ± 8.43	29.88 ± 8.47
超滤工艺	14	17.60 ± 7.27	25.04 ± 5.22	$37.69 \pm 5.25^{1)}$	$32.98 \pm 8.81^{1)}$	$20.5 \pm 5.39^{1)}$	$18.15 \pm 3.73^{2)}$
	7	17.84 ± 6.93	23.45 ± 6.48	$36.58 \pm 10.68^{1)}$	36.01 ± 10.41	24.29 ± 5.94	$19.96 \pm 5.89^{2)}$
原工艺	14	21.28 ± 5.94	32.92 ± 7.35	$34.76 \pm 11.49^{1)}$	39.88 ± 9.75	29.76 ± 6.9	23.92 ± 7.34
	7	20.08 ± 5.84	34.33 ± 6.35	38.90 ± 6.38	37.47 ± 13.00	28.51 ± 7.25	23.71 ± 7.18

3.3 对大鼠肉芽肿的抑制作用 清开灵对大鼠棉球肉芽肿有不同程度的抑制作用, 其中超滤工艺 $14 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组肉芽肿湿重与模型组比较有极显著差异, $P < 0.01$, 原工艺 $14 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组与模型组比较有显著差异, $P < 0.05$; 超滤 $14 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组肉芽肿干重与模型组、原工艺组比较均有极显著差异, $P < 0.01$ 。显示超滤工艺对棉球植入引起的慢性炎症有明显的

抑制作用。结果见表 3。

表 3 各组对大鼠棉球植入致肉芽肿的抑制作用 ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

组别	剂量 $/\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}$	湿重 / mg	干重 / mg
模型	—	441.0 ± 83.7	70.9 ± 23.6
超滤工艺	14	$336.4 \pm 57.9^{2)}$	$46.9 \pm 10.2^{2,5)}$
	7	427.8 ± 59.6	78.7 ± 12.6
原工艺	14	$389.5 \pm 37.6^{1)}$	72.0 ± 12.9
	7	460.4 ± 76.4	77.6 ± 13.0

注: 与原工艺相应剂量比较⁴⁾ $P < 0.05$, ⁵⁾ $P < 0.01$

3.4 指标成分检测结果 超滤工艺与原工艺各相应成份比较, $P > 0.05$, 无显著性差异, 见表 4。

表 4 两种工艺产品指标成分的比较 / ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; $\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	氮含量	胆酸	栀子苷	黄芩苷
原工艺	2.64 \pm 0.06	1.90 \pm 0.07	0.78 \pm 0.07	4.70 \pm 0.20
超滤工艺	2.59 \pm 0.05	1.88 \pm 0.07	0.80 \pm 0.01	4.65 \pm 0.20

3.5 超滤工艺产品热原检查结果 超滤工艺产品 6 批热原检查均符合规定, 升温总和均小于 1.4 。

4 讨论

本研究基于清开灵注射液在临床应用中治疗高热、上呼吸道感染、肺炎等与炎症有关疾病的作用, 选择解热、抗炎两个主要药效学指标, 通过实验证实, 两种工艺产品与模型组比较均有显著的解热抗炎作用, 超滤工艺清开灵注射液与原工艺清开灵注射液相比, 解热作用相当和对慢性炎症抑制作用更强。

超滤是利用膜的筛分性质, 实现溶液中大、小分子物理分离的膜分离过程^[3] 中药有效物质基础化学成分分子量一般在几百到几千道尔顿(KD)^[4], 清开灵注射液中已知化学成分分子量均为 1 KD 以下。

而细菌内毒素是大分子脂多糖类物质, 在水溶液中分子量约为 50 KD ~500 KD, 选择合适的超滤膜, 既能有效除去热原和大分子杂质, 又能保留有效成分, 因此, 研究了在清开灵注射液灌装前增加超滤的工艺。热原检查结果显示, 超滤有很好的除热原效果, 超滤产品与原工艺产品指标性成分比较无显著性差异, 超滤工艺保持了原工艺清开灵注射液的解热和抗炎作用。因此, 超滤工艺的应用, 有望提高清开灵注射液的质量, 值得在实际生产中应用推广。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2005: 610.
- [2] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 244.
- [3] 任建新. 膜分离技术及其应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003: 21.
- [4] 周家驹, 谢桂荣, 严新建. 中药原植物化学成分手册[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 24, 282, 502, 860.