

# 小半夏加茯苓汤水提物特征图谱 及其止吐药效物质基础的研究

曾万玲, 杜薇, 何前松, 冯泳\*, 彭小冰, 张丽丽  
(贵阳中医学院, 贵阳 550002)

**[摘要]** **目的:**建立小半夏加茯苓汤的特征图谱,探索小半夏加茯苓汤止吐作用的有效物质基础。**方法:**采用 HPLC 建立小半夏加茯苓汤的特征图谱。实验分 3 批,每批取健康家鸽 50 只,均分为空白对照组、呕吐模型组、小半夏加茯苓汤(拆方、生半夏)高、中、低剂量组(0.6, 0.3, 0.15 g·kg<sup>-1</sup>),按分组给药,对照组和模型组给予同体积蒸馏水,每天 1 次,连续 3 d。末次药后 1 h 用硫酸铜制作家鸽呕吐模型,以呕吐潜伏期、呕吐次数、呕吐频率为指标,观察小半夏加茯苓汤(原方)、拆方(生半夏+生姜)、生半夏水提物对模型家鸽的止吐作用。**结果:**HPLC 测定显示小半夏加茯苓汤中姜酚含量较高,以 6-姜酚为最高,占 23 个标记特征峰总峰面积的 20% 左右。原方及拆方对硫酸铜所致家鸽呕吐均有不同程度抑制作用,止呕强度趋势为原方>拆方>生半夏。**结论:**小半夏加茯苓汤及拆方水提物有一定止吐的作用,结合复方中姜酚含量较高的特征图谱,提示姜酚可能是本方药止吐药效的物质基础之一。

**[关键词]** 小半夏加茯苓汤; 拆方; 止吐作用; 姜酚; 特征图谱

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)01-0184-04

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20121030.1142.004.html>

**[网络出版时间]** 2012-10-30 11:42

## Study on Characteristic Chart of Xiaobanxia Plus Fuling Decoction Extract and Basic Substances of its Antiemetic Function

ZENG Wan-ling, DU Wei, HE Qian-song, FENG Yong\*, PENG Xiao-bing, ZHANG Li-li  
(Gaiyang Traditionnal Chinese Medical Callege, Guiyang 550002, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish the characteristic Chart of Xiaobanxia plus Fuling decoction to find the basic substances of its antiemetic effects. **Method:** HPLC was used to establish the characteristic chart of Xiaobanxia plus Fuling decoction. Fifty pigeons were divided into several groups, treated with salt water or different dosage of Xiaobanxia plus Fuling decoction, Xiaobanxia decoction and Rhizoma Pinelliae. Pigeon vomiting models were established by copper sulphate. The latency period of vomiting, vomiting times and frequency were observed to study the antiemetic effect of Xiaobanxia plus Fuling decoction extract and the separating prescription (pinellia temate and ginger, pinellia temate) aqueous extract. **Result:** The content of ginger phenols in the original decoction was the highest, and among which 6-gingerol was the highest. Both the original decoction and its separating prescription had different degree of antiemetic effect. Xiaobanxia plus Fuling decoction > Xiaobanxia decoction > Rhizoma Pinelliae. **Conclusion:** Xiaobanxia plus Fuling decoction and its separating decoction have certain antiemetic effect. Considering the chart obtained form HPLC ginger phenols is the major content, which suggests that gingerol may be one of the major basis substance for its antiemetic effect in this prescription.

**[Key words]** Xiaobanxia plus Fuling decoction; separating prescription; antiemetic effect; gingerol; characteristic spectrum

**[收稿日期]** 20120618(008)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(30960472);贵州省科技计划(黔科合中药字[2011]LK7030号)

**[第一作者]** 曾万玲,教授,从事中药复方药效及机制研究,E-mail:zw13841582@sina.com

**[通讯作者]** \*冯泳,教授,主要从事中药复方配伍研究,E-mail:fy668@sina.com

小半夏加茯苓汤是东汉名医张仲景《金匮要略》中的经典止呕方剂,由生半夏、生姜、茯苓组成,具有祛痰降逆、温胃止呕之功,主治痰饮所致的呕吐、眩晕等证。临床广泛用于治疗各种原因引起的呕吐获得肯定疗效。本课题组近年来对该方研究不断深入,不仅证实了方药的有效性,且在其相关作用机制研究方面,取得了一定进展。为进一步寻找本方药可能的有效成分或成分群,探索其止吐药效物质基础及组方规律,我们建立了小半夏加茯苓汤的特征图谱,并结合药效学探索了原方及拆方水提物的止吐药效差异。

## 1 材料

**1.1 仪器** 高效液相色谱仪(LC-20AT),二元泵,二极管阵列检测器(PDA),色谱工作站(WML·2001),AG135型电子天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司),SHZ-Ⅲ型循环水真空泵,CH-250型超声波清洗机(天津恒奥科技公司,功率250 W,频率33 kHz),旋转蒸发仪,水浴锅等。

**1.2 试药与试剂** 半夏 *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit(贵州赫章县河镇半夏生产基地)、生姜 *Zingiber officinale* Rosc.(贵州长顺蔬菜生产基地)、茯苓 *poria cocos* (Sehw.) Wolf(贵州省黎平县森泰公司),三药经本校药学系生药实验室王世青教授鉴定为正品。6-姜酚、10-姜酚(天津马克生物技术有限公司);8-姜酚(天津化标生物技术有限公司);芦丁(南京泽朗医药科技有限公司);色谱甲醇(天津科密欧化学试剂有限公司);色谱乙腈(天津市大茂化学试剂厂);磷酸;CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O(分析纯,上海振欣试剂厂);娃哈哈纯净水。

**1.3 动物** 市售健康家鸽,350~400 g,雌雄兼用。

## 2 方法

**2.1 小半夏加茯苓汤、拆方(生半夏+生姜)及单方(生半夏)水提物浸膏的制备** 按处方倍数量称取药材,原方:生半夏360 g+生姜300 g+茯苓180 g;拆方:生半夏360 g+生姜300 g;单方:生半夏360 g。分别加入6倍量水煎煮3次,共煎煮60 min,过滤、合并滤液,浓缩、减压干燥成浸膏,将浸膏粉碎成细粉即分别得到复方、拆方、单方样品,临用时蒸馏水配成所需浓度。每1 g浸膏含生药量为:原方26.2 g,拆方18.5 g,单方16.2 g。

**2.2 小半夏加茯苓汤 HPLC 特征图谱的建立** 小半夏加茯苓汤的 HPLC 特征图谱的色谱条件为:色谱柱为菲罗门 C<sub>18</sub> 反相色谱分析柱,流动相为乙腈-0.1% 磷酸水溶液,采用流动相二元梯度洗脱系统,

90 min 内梯度洗脱,检测波长为 220 nm。

经精密度试验、重复性试验和稳定性试验显示,小半夏加茯苓汤按上述色谱条件进行测定,连续进样6次,均从6个色谱图(图1)中标记出23个特征峰。

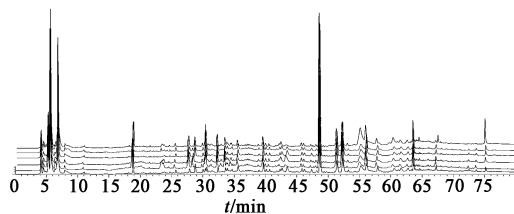
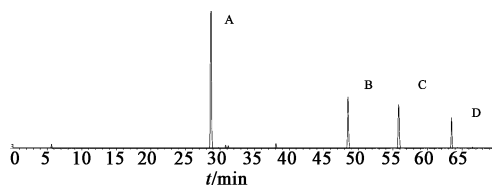


图1 小半夏加茯苓汤特征图谱的叠加

对照品的 HPLC 图谱:分别吸取芦丁、6-姜酚、8-姜酚及 10-姜酚储备液 20 μL,按上述色谱条件进行测定,记录色谱叠加图谱如图 2 所示。4 种对照物质出峰时间由前到后依次为芦丁、6-姜酚、8-姜酚及 10-姜酚。



A. 芦丁;B. 6-姜酚;C. 8-姜酚;D. 10-姜酚

图2 4种对照物质 HPLC

**2.3 呕吐模型及观察指标<sup>[1]</sup>** 实验鸽于造模前12 h禁食不禁水过夜,除空白对照组外其余各组动物 ig 2.5% CuSO<sub>4</sub> 溶液,ig 容积 10 mL·kg<sup>-1</sup>,立即记录2 h内家鸽的呕吐潜伏期(灌服 CuSO<sub>4</sub> 至发生第1次呕吐的时间)、呕吐次数(从家鸽开始呕吐至一阵呕吐停止记为1次,即家鸽出现伸脖、张口、耸肩、腹部收缩至恢复平静,或呕吐停止)及呕吐频率(家鸽每次呕吐过程中伸脖、张口、耸肩、腹部收缩等动作的次数)。

**2.4 分组与给药** 实验分3批进行,每批取家鸽50只随机均分5组,即空白对照组、模型组、小半夏加茯苓汤(或生半夏+生姜或生半夏)水提物高、中、低剂量(0.6, 0.3, 0.15 g·kg<sup>-1</sup>)组,用药组按分组剂量 ig 给药,空白对照及模型组 ig 等量蒸馏水,1次/d、连续3 d,ig 容积 10 mL·kg<sup>-1</sup>,末次药后40 min按2.3造模。

**2.5 统计方法** 实验数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS 17.0.0 统计软件进行分析,多个样本均数比较,服从正态分布、方差齐性时,采用单因素方差分析,不服从正态分布或方差不齐性,采用非参数检

验。P < 0.05 表示有显著性差异。

### 3 结果

**3.1 小半夏加茯苓汤的 HPLC 特征图谱** 由小半夏加茯苓汤的特征图谱及对照物质图谱(图 1~2)可见,小半夏加茯苓汤含有 6-姜酚、8-姜酚及 10-姜酚、芦丁,尤其是 6-姜酚含量较高,根据各峰面积比较显示,6-姜酚含量占 23 个标记特征峰总峰面积的 20% 左右。

**3.2 小半夏加茯苓汤水提物对 CuSO<sub>4</sub> 致家鸽呕吐的影响** 小半夏加茯苓汤各剂量均可显著延长家鸽呕吐潜伏期、减少呕吐次数、降低呕吐频率,与模型组比较 P < 0.05 及 P < 0.01,原方表现良好的镇吐

效应,特别以中剂量减少呕吐次数较为突出。见表 1。

**3.3 拆方(生半夏+生姜)水提物对 CuSO<sub>4</sub> 致家鸽呕吐的影响** 拆方水提物各剂量组有明显降低呕吐频率作用,中剂量可显著延长呕吐发生潜伏期,中、小剂量亦减少呕吐次数,但从整体止吐效应来看拆方不及原方。见表 2。

**3.4 生半夏水提物对 CuSO<sub>4</sub> 致家鸽呕吐的影响** 生半夏水提物高剂量可延长家鸽呕吐潜伏期、减少呕吐次数,与模型组比较有非常显著性差异(P < 0.01),小剂量表现较弱的止呕作用,中剂量则无效。见表 3。

表 1 小半夏加茯苓汤水提物对硫酸铜溶液致家鸽呕吐的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	呕吐潜伏期/min	呕吐数/次	呕吐频率/次
空白对照	-	-	-	-
模型	-	7.10 ± 3.51	12.90 ± 6.30	11.69 ± 2.96
小半夏加茯苓汤	0.60	20.40 ± 17.91 <sup>2)</sup>	7.20 ± 3.77 <sup>1)</sup>	9.70 ± 1.68
	0.30	17.00 ± 14.15 <sup>1)</sup>	4.20 ± 1.40 <sup>2)</sup>	8.05 ± 1.76 <sup>2)</sup>
	0.15	34.40 ± 45.30 <sup>1)</sup>	7.60 ± 4.53 <sup>1)</sup>	7.99 ± 3.21 <sup>1)</sup>

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

表 2 生半夏+生姜水提物对硫酸铜溶液所致家鸽呕吐的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	呕吐潜伏期/min	呕吐数/次	呕吐频率/次
空白对照	-	-	-	-
模型	-	10.00 ± 4.00	11.40 ± 4.40	11.21 ± 2.18
生半夏+生姜	0.60	9.00 ± 4.60	11.30 ± 6.20	9.50 ± 1.95
	0.30	14.50 ± 13.34	8.90 ± 5.91	9.29 ± 2.15 <sup>1)</sup>
	0.15	8.60 ± 4.76	7.20 ± 3.19 <sup>1)</sup>	9.05 ± 2.04 <sup>1)</sup>

表 3 生半夏水提物对硫酸铜溶液所致家鸽呕吐的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	n	呕吐潜伏期/min	呕吐数/次	呕吐频率/次
空白对照	-	10	-	-	-
模型	-	10	6.40 ± 1.84	10.50 ± 3.63	10.01 ± 3.37
生半夏	0.60	9	20.66 ± 15.92 <sup>2)</sup>	4.44 ± 2.92 <sup>2)</sup>	10.32 ± 3.20
	0.30	9	7.78 ± 3.35	10.67 ± 4.24	10.50 ± 1.13
	0.15	9	16.44 ± 20.40 <sup>1)</sup>	7.56 ± 4.98	9.18 ± 3.76

### 4 讨论

呕吐是许多疾病的常见症状,如消化系统疾患、慢性肾炎及尿毒症、妊娠、美尼尔氏综合征、晕动症、药物毒副反应等均可出现呕吐,患者倍感不适和痛苦,尤其是癌症放、化疗引起的剧吐,常使病人不能耐受或放弃后续治疗。小半夏加茯苓汤主治痰饮所致的呕眩悸证,临床广泛用于治疗多种原因引起的呕吐或用于化疗引起的呕吐,疗效较为满意<sup>[2]</sup>。已

有研究显示小半夏加茯苓汤含有生物碱和 6-姜酚等成分<sup>[3-4]</sup>;离体实验显示,小半夏加茯苓汤及其拆方提取物对家兔胃肠运动具有双向调节作用,复方药效优于拆方<sup>[5]</sup>。

本实验采用 HPLC 检测了复方中芦丁、6-姜酚、8-姜酚、10-姜酚等成分含量,分别对其线性、精密度、重复性、稳定性及加样回收进行考察,线性均较好,r 均 > 0.999,且精密度、重复性及稳定性均较

好,RSD均 $<2.0\%$ 。本研究结果显示小半夏加茯苓汤含有6-姜酚、8-姜酚及10-姜酚、芦丁,尤其是6-姜酚含量较高,根据各峰面积比较显示,6-姜酚含量占23个标记特征峰总峰面积的20%左右。

药效研究结果显示,小半夏加茯苓汤水提物各剂量均可延长 $\text{CuSO}_4$ 引起家鸽发生呕吐的潜伏期、减少呕吐次数及降低呕吐频率,中剂量在减少呕吐次数方面作用尤为显著。拆方水提物各剂量组能明显降低呕吐频率,中、低剂量亦减少呕吐次数,但止吐效应有所减弱。而生半夏水提物只有高剂量有显著止呕作用,中、低剂量作用较弱或无效。综合3批实验结果,可得出小半夏加茯苓汤及拆方的止吐强度趋势为原方 $>$ 拆方 $>$ 生半夏。

姜酚是生姜中的主要辣味物质,包括6-姜酚、8-姜酚、10-姜酚、12-姜酚等10余种成分,已有研究显示其为生姜的主要活性成分,其中6-姜酚的含量最高,其生物活性也最强,因此6-姜酚常作为评价生姜及其药物品质的客观指标<sup>[6]</sup>,研究证实姜辣素可显著抑制特异性 $5\text{-HT}_3$ 受体激动剂PBG和多巴胺受体激动剂阿朴吗啡引起的呕吐<sup>[7]</sup>。本研究用HPLC测得复方中含有多种姜酚,以6-姜酚含量最高,与文献报道相符,故认为姜酚亦是小半夏加茯苓汤止吐药效的有效物质组分之一。

课题组前期研究已表明,小半夏加茯苓汤所含总生物碱是其药效物质基础之一<sup>[8]</sup>。本实验研究显示原方止吐作用最佳,而且方中姜酚的含量较高,说明本方药含多种止吐成分,三药相须相使,产生良好的协同作用。拆方不及原方,是否与缺乏茯苓使方药的药效物质及多靶点作用有所减少有关,有待进一步探讨。生半夏主要是生物碱发挥止吐作用,

止吐物质相对单一,故作用逊于拆方和复方。

以上结果和分析说明中药复方的药效物质基础和药效之间存在一定的相关性。可以推测小半夏加茯苓汤止吐效用物质群是多样的,除生物碱、姜酚有肯定作用外,还有挥发油、氨基酸、多糖等也可能参与止吐,因此继续寻找该方药的有效物质群和有效物质,明确与止吐功效之间的关系,是我们下一步将要进行的工作。

#### [参考文献]

- [1] 何前松,冯泳,时京珍,等. 小半夏加茯苓颗粒抗顺铂致家鸽呕吐的药效学观察[J]. 辽宁中医药大学学报, 2009,11(4):209.
- [2] 冯泳,何前松,时京珍,等. 小半夏加茯苓汤的研究概况[J]. 江苏中医药,2008,40(2):84.
- [3] 郭延红,杜薇,王云峰,等. 小半夏加茯苓汤及其拆方总生物碱含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(4):57.
- [4] 冯果,刘文,张永萍,等. HPLC测定复方止呕颗粒剂中6-姜酚含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(11):68.
- [5] 何前松,冯泳,赵云华,等. 小半夏加茯苓汤及其拆方对家兔离体胃肠运动的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(6):192.
- [6] 张雪红,刘红星. 姜酚的研究进展[J]. 广西师范学院学报:自然科学版,2009,26(1):110.
- [7] 王耀霞,杨志宏,岳旺,等. 姜辣素在2种呕吐动物模型中止呕作用机制的探讨[J]. 沈阳药科大学学报,2009,26(2):134.
- [8] 刘文,冯泳. 小半夏加茯苓汤中药效物质的正交试验筛选[J]. 中草药,2005,36(1):51.

[责任编辑 聂淑琴]