

## 二陈汤化痰止咳有效部位的筛选研究

张超云<sup>1\*</sup>, 张晓芬<sup>1</sup>, 张雪鹏<sup>1</sup>, 席先蓉<sup>2</sup>

(1. 南阳理工学院, 河南 南阳 473004; 2. 贵阳中医学院, 贵阳 550002)

**[摘要]** **目的:**初步筛选二陈汤化痰止咳的有效部位。**方法:**小鼠随机分为12组:生理盐水组、克立停组(DHS)、二陈汤5个提取部位的高、低剂量组(15, 3.75 g·kg<sup>-1</sup>), 各组分别ig给药, 连续3 d, 2次/d, 末次给药后1 h, 采用氨水引咳法观察不同提取部位对小鼠咳嗽次数的影响; 小鼠随机分为12组:生理盐水组、沐舒坦组(AHOS)、二陈汤5个提取部位的高、低剂量组(15, 3.75 g·kg<sup>-1</sup>), 各组分别ig给药, 连续3 d, 2次/d, 末次给药后30 min, 采用酚红法观察不同提取部位对小鼠气管酚红分泌量的影响; 豚鼠随机分为12组:生理盐水组、氨茶碱组(Ami)、二陈汤5个提取部位的高、低剂量组(8.32, 2.08 g·kg<sup>-1</sup>), 各组分别ig给药, 连续3 d, 2次/d, 末次给药后1 h, 采用组胺诱喘法观察不同提取部位对小鼠翻倒时间的影响。并通过上述方法对5个不同提取部位进行药效学筛选。**结果:**二陈汤挥发油部位、正丁醇部位和水部位可显著抑制小鼠咳嗽次数、增加小鼠酚红分泌量及延长豚鼠翻倒时间( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ), 而石油醚部位、乙酸乙酯部位对此作用不显著。**结论:**初步排除石油醚部位、乙酸乙酯部位, 并确定二陈汤治疗湿痰证的有效部位为挥发油部位、正丁醇部位和水部位。

**[关键词]** 二陈汤; 祛痰; 止咳; 有效部位

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)12-0218-04

### Screening the Effective Parts from Erchen Decoction for Expectorant and Antitussive

ZHANG Chao-yun<sup>1\*</sup>, ZHANG Xiao-fen<sup>1</sup>, ZHANG Xue-peng<sup>1</sup>, XI Xian-rong<sup>2</sup>

(1. Nanyang Institute of Technology, Nanyang 473004, China;

2. Guiyang College of Traditionl Chinese Medicine, Guiyang 550002, China)

**[Abstract]** **Objective:** To screen the effective parts from Erchen Tang for expectorant and antitussive. **Method:** The mice were allotted into 12 groups as following: physiological saline, DHS group, the five part from Erchen decocotion groups with high dose (HD) and low dose (LD, 15, 3.75 g·kg<sup>-1</sup>), the mice were orally administered for 3 days, the antitussive effect was observed by concentrated ammonia method after 1 h. The mice

**[收稿日期]** 20111115(015)

**[基金项目]** 南阳理工学院2009年度科研基金项目(NG2009KYJJ17)

**[通讯作者]** \*张超云, 讲师, 中药学硕士, 从事中药复方研究, Tel:0377-62071302, E-mail:chaoyun801123@yahoo.com.cn

#### [参考文献]

[1] 钱崇澍, 陈焕镛. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 2004: 53.

[2] 王冰. 兴安毛连菜染色体的核型分析[J]. 中药材, 2003, 26(5): 317.

[3] 侣丽红, 赵余庆. 苦瓜的降血糖作用及活性成分的研究[J]. 中药材, 2002, 25(6): 449.

[4] 郭健, 艾静, 李青松, 等. 中药血糖安降血糖作用的研究[J]. 哈尔滨医科大学学报, 2001, 35(6): 399.

[5] 杨帆, 戚进, 朱丹妮, 等. 增液汤降糖作用实验研究

[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(8): 98.

[6] 覃振林, 韦海英, 廖冬燕, 等. 瑶药柚子枫提取物降血糖作用的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(4): 108.

[7] 邓航, 贺敏, 李江柿, 等. 柿叶多糖对糖尿病小鼠降血糖作用及其机制研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(4): 114.

[8] 王北婴, 李仪奎. 中药新药研制开发技术与方法[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2001: 791.

[责任编辑 聂淑琴]

were allotted into 12 groups as following: physiological saline, AHOS group, the five part from Erchen decoction groups with high dose (HD) and low dose (LD, 15, 3.75 g·kg<sup>-1</sup>), the mice were orally administered for 3 days, the expectorant effect was observed by increased the secretion of expect oration method after 30 min. The cavies were allotted into 12 groups as following: physiological saline aminophylline group, the five part from Erchen decoction groups with high dose (HD) and low dose (LD, 8.32, 2.08 g·kg<sup>-1</sup>), the cavies were orally administered for 3 days, the antiasthmatic effect was observed by spray method after 1 h. **Result:** Essential oil, butanol and water fractions could reduce the frequency of cough, and increase secretion of expectoration, and inhibitory asthma ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ); petroleum ether and ethyl acetate fractions could not reduce the frequency of cough, could not increase secretion of expectoration, and inhibitory asthma. **Conclusion:** The results show that petroleum ether and ethyl acetate fractions were invalid, essential oil, butanol and water fractions were the effective parts of Erchen Tang for expectorant and antitussive.

[**Key words**] Erchen Tang; expectorant; antitussive; effective parts

二陈汤,源于宋代《太平惠民和剂局方》,燥湿化痰,理气和中,为祛痰的基础方剂,主治湿痰证,湿痰证临床主要症状即痰、咳、喘。本文充分考虑了中药复方有效部位的研究现状和进展<sup>[1-4]</sup>,参考了目前其他类似研究的方法<sup>[5-6]</sup>,并结合该方临床功效和应用,在前期分离出来二陈汤不同部位及含量测定<sup>[7]</sup>的工作基础上,以药理学方法初步筛选其有效部位,为中药复方二陈汤的深入开发提供理论依据。

## 1 材料

**1.1 药物** 方中药材由同济堂药房提供,并由贵阳中医学院生药教研室刘芄教授鉴定,半夏 *Pinellia ternata* (Thunb) Breit., 陈皮 *Citrus reticulata* Blanco, 茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf, 甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch., 生姜 *Zingiber officinale* Rosc., 乌梅 *Prunus mume* (Sieb.) Sieb. et Zucc., 6味药材均为2005年版《中国药典》收载品种。盐酸氨溴索口服液(沐舒坦,上海勃林格殷格翰药业有限公司,批号184322), 氢溴酸右美沙芬口服溶液(克立停,珠海联邦制药有限公司,批号10504403), 氨茶碱片(山西太原药业有限公司,批号110805)。

**1.2 动物** 昆明种小鼠、健康豚鼠(贵阳医学院动物房提供), 许可证号 SCXK(黔)2002-0001。

**1.3 试剂** 氨水、碳酸氢钠、酚红(上海虹光化学厂)。

**1.4 仪器** 980-A型超声雾化器(上海医械五机厂), 722-分光光度计(上海第三分析仪器厂)。

## 2 方法

**2.1 供试药品制备** 二陈汤按照原方比例取法半夏150 g, 陈皮150 g, 茯苓90 g, 甘草50 g, 生姜30 g, 乌梅30 g。使用超临界CO<sub>2</sub>提取方法得挥发油部

位, 剩余残渣使用75%乙醇回流提取2次, 每次50 min, 过滤, 滤液依次使用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取, 回收溶剂, 得石油醚部位、乙酸乙酯部位、正丁醇部位、水部位等4种不同浸膏, 之前, 分别用蒸馏水或适当溶剂处理, 配成试验用药浓度即可。5个部位质量浓度分别为1.8, 12.8, 1.2, 2.7, 18.9 g·L<sup>-1</sup>, 分为高、低2个剂量给药, 二陈汤原方成人临床用药剂量为50 g·(60 kg)<sup>-1</sup>, 小鼠用药量折合生药分别为15, 3.75 g·kg<sup>-1</sup>, 豚鼠用药量折合生药分别为8.32, 2.08 g·kg<sup>-1</sup>。

**2.2 对小鼠氨水引咳作用的影响**<sup>[8-9]</sup> 昆明种小鼠120只, (20±2)g, 雌雄各半, 随机分为12组, 每组10只, 分别为生理盐水组、阴性对照组(克立停, 10 mL·kg<sup>-1</sup>)、二陈汤挥发油部位、石油醚部位、乙酸乙酯部位、正丁醇部位、水部位的高、低剂量组, 分别相当生药量为15, 3.75 g·kg<sup>-1</sup>, 每12 h ig给药1次, 连续3 d, 末次给药前禁食12 h, 给药后1 h, 放入喷雾器内, 恒压喷雾浓氨水溶液20 s, 取出小鼠放置于合适的透明容器中, 观察2 min内动物咳嗽次数。

**2.3 对小鼠气管酚红分泌量的影响**<sup>[10]</sup> 昆明种小鼠120只, (20±2)g, 雌雄各半, 随机分为12组, 每组10只, 分别为生理盐水组、对照组(沐舒坦, 4 mL·kg<sup>-1</sup>)、二陈汤挥发油部位、石油醚部位、乙酸乙酯部位、正丁醇部位、水部位的高低剂量组。分别相当生药量为15, 3.75 g·kg<sup>-1</sup>, 每12 h ig给药1次, 连续3 d。末次给药前禁食12 h, 给药后30 min, ip 0.8%酚红溶液(10 mL·kg<sup>-1</sup>), 40 min后把小鼠处死, 迅速剥离气管, 用0.1 mL 4.2%的NaHCO<sub>3</sub>溶液冲洗气管3次, 冲洗液加入10 mL试管(事先加入2 mL 0.9%的生理盐水和0.5 mL 4%的NaOH溶液), 用722-分光光度计546 nm测定吸光度(A)。

**2.4 对豚鼠整体组胺吸入诱喘作用的影响**<sup>[10]</sup> 健康豚鼠 120 只, (160 ~ 200) g, 雌雄各半, 随机分为 12 组, 每组 10 只, 分别为生理盐水组、对照组(氨茶碱, 0.1 g·kg<sup>-1</sup>)、二陈汤末次给药前禁食 12 h, 给药后 1 h, 逐只将豚鼠放入喷雾器中, 喷雾 0.4% 磷酸组胺气雾, 记录开始喷雾至豚鼠翻倒发生时间。若动物喷雾超过 300 s 仍不发生翻倒者, 一律以 300 s 记录。

**2.5 统计方法** 采用 SPSS 13.0 统计软件, 数据用  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较用 *t* 检验。P < 0.05 有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 对小鼠氨水引咳作用的影响** 二陈汤各不同部位组与生理盐水组比较, 挥发油部位组与水部位组有极显著性差异(P < 0.01), 正丁醇部位组有显著性差异(P < 0.05), 石油醚部位组与乙酸乙酯部位组无显著性差异, 说明挥发油部位、水部位与正丁醇部位 3 组能明显抑制小鼠咳嗽次数, 石油醚部位与乙酸乙酯部位 2 组对小鼠咳嗽次数无明显抑制作用。二陈汤各不同部位组与阳性对照克立停组比较, 石油醚部位组与乙酸乙酯部位组有极显著性差异(P < 0.01), 正丁醇部位组与水部位组有显著性差异(P < 0.05), 挥发油部位组无显著性差异。故此指标可初步排除二陈汤石油醚部位和乙酸乙酯部位。见表 1。

表 1 二陈汤不同提取部位对小鼠咳嗽次数的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	咳嗽次数/次
0.9% 生理盐水	-	18.89 ± 3.15
克立停	10 mL·kg <sup>-1</sup>	4.80 ± 2.94 <sup>2)</sup>
挥发油部位	15	5.62 ± 2.87 <sup>2)</sup>
	3.75	6.26 ± 3.21 <sup>2)</sup>
石油醚部位	15	18.20 ± 2.62 <sup>4)</sup>
	3.75	20.08 ± 3.28 <sup>4)</sup>
乙酸乙酯部位	15	16.41 ± 3.47 <sup>4)</sup>
	3.75	19.12 ± 3.86 <sup>4)</sup>
正丁醇部位	15	8.13 ± 2.85 <sup>1,3)</sup>
	3.75	9.96 ± 3.02 <sup>1,3)</sup>
水部位	15	6.11 ± 2.93 <sup>2)</sup>
	3.75	8.05 ± 3.25 <sup>1,3)</sup>

注:与生理盐水组比较<sup>1)</sup>P < 0.05, <sup>2)</sup>P < 0.01;与阳性对照克立停组比较<sup>3)</sup>P < 0.05, <sup>4)</sup>P < 0.01。

**3.2 对小鼠气管酚红分泌量的影响** 二陈汤各不同部位组与生理盐水组比较, 水部位组有极显著性

差异(P < 0.01), 挥发油部位组与正丁醇部位组有显著性差异(P < 0.05), 石油醚部位组与乙酸乙酯部位组无显著性差异, 说明水部位、挥发油部位与正丁醇部位 3 组能明显增加小鼠酚红分泌量, 石油醚部位与乙酸乙酯部位 2 组对小鼠酚红分泌量无明显增加。二陈汤各不同部位组与阳性对照沐舒坦组比较, 石油醚部位组、乙酸乙酯部位组有极显著性差异(P < 0.01), 正丁醇部位组、挥发油部位组有显著性差异(P < 0.05), 水部位组无显著性差异。故此指标可初步排除石油醚部位和乙酸乙酯部位。见表 2。

表 2 二陈汤不同提取部位对小鼠酚红分泌量的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	酚红分泌量/A × 10 <sup>-3</sup>
0.9% 生理盐水	-	37.00 ± 2.98
阳性对照沐舒坦	4 mL·kg <sup>-1</sup>	85.80 ± 3.70 <sup>2)</sup>
挥发油部位	15	64.00 ± 3.73 <sup>1,3)</sup>
	3.75	58.29 ± 3.88 <sup>1,3)</sup>
石油醚部位	15	38.20 ± 3.53 <sup>4)</sup>
	3.75	37.22 ± 2.96 <sup>4)</sup>
乙酸乙酯部位	15	43.20 ± 3.97 <sup>4)</sup>
	3.75	39.58 ± 3.38 <sup>4)</sup>
正丁醇部位	15	69.10 ± 4.60 <sup>1,3)</sup>
	3.75	60.92 ± 4.81 <sup>1,3)</sup>
水部位	15	77.60 ± 4.21 <sup>2)</sup>
	3.75	74.25 ± 4.68 <sup>2)</sup>

注:与生理盐水组比较<sup>1)</sup>P < 0.05, <sup>2)</sup>P < 0.01;与阳性对照沐舒坦组比较<sup>3)</sup>P < 0.05, <sup>4)</sup>P < 0.01。

**3.3 对豚鼠整体组胺吸入诱喘作用的影响** 二陈汤各不同部位组与生理盐水组比较, 挥发油部位组与水部位组有极显著性差异(P < 0.01), 正丁醇部位组有显著性差异(P < 0.05), 石油醚部位组、乙酸乙酯部位组无显著性差异, 说明挥发油部位、水部位与正丁醇部位 3 组能明显延长豚鼠翻倒时间, 石油醚部位与乙酸乙酯部位 2 组对豚鼠翻倒时间无明显延长。二陈汤各不同部位组与阳性对照氨茶碱组比较, 石油醚部位组、乙酸乙酯部位组有极显著性差异(P < 0.01), 正丁醇部位组、水部位组有显著性差异(P < 0.05), 挥发油部位组无显著性差异。故此指标可初步排除石油醚部位和乙酸乙酯部位。见表 3。

### 4 讨论

二陈汤主治湿痰证, 与其他祛痰止咳的药物相比较, 历史更为悠久, 临床依据更加丰富, 但是在二次开发上明显不足, 本研究即为其不同提取部位的筛选和排除进行了探讨, 初步排除了石油醚部位和

表3 不同组别豚鼠翻倒发生时间( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	翻倒发生时间/s
0.9%生理盐水	-	81.9 ± 5.6
阳性对照氨茶碱	0.1	268.2 ± 11.5 <sup>2)</sup>
挥发油部位	8.32	206.7 ± 12.4 <sup>2,3)</sup>
	2.08	183.0 ± 10.3 <sup>2,3)</sup>
石油醚部位	8.32	89.6 ± 8.3 <sup>4)</sup>
	2.08	85.7 ± 7.2 <sup>4)</sup>
乙酸乙酯部位	8.32	93.3 ± 9.0 <sup>4)</sup>
	2.08	91.6 ± 8.7 <sup>4)</sup>
正丁醇部位	8.32	188.6 ± 11.3 <sup>2,3)</sup>
	2.08	169.8 ± 10.3 <sup>2,3)</sup>
水部位	8.32	156.3 ± 9.7 <sup>2,3)</sup>
	2.08	138.3 ± 9.0 <sup>1,4)</sup>

注:与生理盐水组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ;与阳性对照氨茶碱组比较<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>4)</sup>  $P < 0.01$ 。

乙酸乙酯部位,继而为其进一步研究如提取工艺、质量标准、药代动力学、新剂型开发等提供依据,如传统煎剂挥发油容易损失,可考虑现将其提取出来,在混合其他部位进行剂型改革。另外本研究亦存在诸多不足之处,比如所选用的3个药理指标尽管很具有代表性,但依然不能代表复方的全部功效,这一方面是由中医药固有的特色所造成的,另一个方面是受到我们实验条件的限制。所以尽管本试验很大程度上表达了二陈汤的原方功效,但是不可否认其依然有一定的片面性,还有待进一步研究。

## [参考文献]

- [1] 刘璐.有效部位群相关问题的思考刍议[J].中国中西医结合杂志,2001,21(10):725.
- [2] 张晓东,张磊,潘国凤.中药有效部位新药研发中有效部位筛选存在问题浅析[J].中药药理与临床,2007,23(4):58.
- [3] 史红,程丽艳,陶亮.中药复方有效部位群研究现状[J].中国药理学通报,2008,24(2):156.
- [4] 黄显章,赵清超,袁林.中药有效部位(群)研究在中药及复方研究中的优势与展望[J].江苏中医药,2010,42(5):1.
- [5] 黄显章,邹鹏程,高秋芳,等.金刚藤有效部位群治疗慢性盆腔炎的抗炎镇痛作用[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(17):114.
- [6] 赵清超,黄显章,胡久略,等.瓜子金有效部位群抗炎作用机制研究[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(2):131.
- [7] 张超云,黄显章,高言明.高效毛细管电泳法测定二陈汤中3种成分含量[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(14):48.
- [8] 孙蓉,彭欣,王平.乌梅生姜对二陈汤功效影响的实验研究[J].山东中医药大学学报,2000,24(3):147.
- [9] 梁中琴,陈星织,王晓霞,等.二陈汤粗粉与二陈汤提取物镇咳祛痰作用比较[J].苏州医学院学报,2000,20(9):802.
- [10] 汪辉,程军,张卫国,等.二陈汤合煎剂与分煎颗粒剂药效学对比研究[J].中国医院药学杂志,2001,21(12):721.

[责任编辑 聂淑琴]