

基于祛痰作用的三物白散配伍机制的拆方研究

章津铭, 傅超美*, 高 飞, 林彦君, 卢君蓉

成都中医药大学 药学院 西部中药材开发与利用教育部重点实验室, 四川 成都 610075

摘 要: **目的** 拆方研究三物白散各药味组合对“寒痰证”的祛痰作用, 探讨方中药味配伍机制。**方法** 通过冰水浴和灌胃冰水的方法制备小鼠“寒痰证”模型, 通过气管酚红排泌实验模型, 比较各组合的祛痰作用, 并利用计算机辅助层级聚类分析, 探讨三物白散拆方后各药味组合机制。**结果** 三物白散全方、巴豆配伍桔梗和巴豆配伍贝母具有显著祛痰作用($P < 0.05$), 单用巴豆则无明显祛痰作用。层级聚类结果显示含巴豆与不含巴豆的组合为不同的作用类型, 配伍巴豆的实验组祛痰作用明显增强。**结论** 三物白散方中巴豆需配伍桔梗或贝母后表现出较强的祛痰作用。

关键词: 三物白散; 祛痰作用; 拆方研究; 配伍机制; 巴豆; 聚类分析

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2012)02-0100-03

Prescription-separated research on compatibility mechanism of Sanwubai Powder based on its expectorant effect

ZHANG Jin-ming, FU Chao-mei, GAO Fei, Lin YAN-jun, LU Jun-rong

Key Laboratory of Western Development and Utilization of Chinese Medicinal Materials, Ministry of Education, College of Pharmacy, Chengdu University of TCM, Chengdu 610075, China

Abstract: **Objective** To study the expectorant effect on ‘cold sputum syndrome’ of different formula combinations of different ingredients in Sanwubai Powder through prescription-separated method and further to explore compatibility mechanism. **Methods** The ice-water bath and ig administration of ice-water were combined to make ‘cold sputum syndrome’ pharmacological model firstly, and then the expectorant effect of each group administrated with different formula combinations was compared by phenolsulfonphthalein excretion of mouse trachea. Finally, the compatibility mechanism of Sanwubai Powder was investigated using computer-assisted cluster analysis. **Results** Whole prescription group, groups of *Crotonis Fructus* compatibility with *Platycodonis Radix* and with *Fritillariae Cirrhosae Bulbus* appeared significant expectorant effects ($P < 0.05$), while there was no significant effect to in single *Crotonis Fructus* group. Expectorant effects of groups with or without *Crotonis Fructus* were differentiated by hierarchical cluster method. It was the fact that effects of groups with *Crotonis Fructus* were significantly improved. **Conclusion** Effective expectorant effects could be exerted for *Crotonis Fructus* only by combination of either *Platycodonis Radix* or *Fritillariae Cirrhosae Bulbus* in different formula combinations of Sanwubai Powder.

Key words: Sanwubai Powder; expectorant effect; prescription-separated research; compatibility mechanism; *Crotonis Fructus*; cluster analysis

三物白散源自《伤寒论》^[1], 为著名的温下祛邪之剂, 由巴豆、桔梗、贝母按照 1:3:3 的比例组成, 临床上适用于以寒痰结胸、阻滞胸膈为主要病机的病证, 证见胸中或心下硬满疼痛而拒按、呼吸不利等症状。《医学入门》卷五:“寒痰因形寒饮冷, 色深青黑如灰, 善唾, 或喘”^[2]。本实验根据寒痰因形寒饮冷的原理, 通过冰水浴和灌胃冰水制

备小鼠“寒痰证”模型, 对酚红气管排泌实验进行改进, 以酚红排泌量、祛痰指数、肺质量系数、肺质量抑制率为指标, 通过观察三物白散组方中药味同排列组合构成的样本药物对动物模型祛痰作用的影响, 结合聚类分析, 探讨三物白散的配伍机制。

1 材料

1.1 药品、试剂及仪器

收稿日期: 2011-10-13

作者简介: 章津铭 (1987—), 男, 四川省内江市人, 中药药剂学在读硕士研究生, 研究方向为中药新制剂及中药基础理论研究。

Tel: 13540759605 E-mail: zhangjinming1987@qq.com

*通讯作者 傅超美 (1961—), 男, 教授, 博士生导师, 四川省学术技术带头人。E-mail: chaomeifu@126.com

巴豆、桔梗、梭砂贝母均购于四川新荷花中药饮片股份有限公司,由成都中医药大学标本中心卢先明教授鉴定;巴豆霜为实验室自制;盐酸氨溴索片(上海勃林格殷格翰药业有限公司),苯酚红(天津市试剂研究所,批号 20080602);550 型酶标仪(美国 Bio-rad 公司);LG10—2.4A 高速台式离心机(北京医用离心机厂)。

1.2 实验动物

昆明种小鼠,18~22 g,普通级,四川省医学科学院动物研究所提供,合格证号:SCXK(川)2008-15。

1.3 样本药物的制备

三物白散全方组:贝母 30 g、桔梗 30 g 加 8 倍水煎煮两次,每次 30 min,滤过并适当浓缩,加入巴豆霜粉末配制成 1.75 g/mL 混悬液。巴豆+贝母组:贝母 30 g 加 8 倍水煎煮两次,每次 30 min,滤过并适当浓缩,加入巴豆霜粉末配制成 1 g/mL 混悬液。巴豆+桔梗组:桔梗 30 g 加 8 倍水煎煮两次,每次 30 min,滤过并适当浓缩,加入巴豆霜粉末配制成 1 g/mL 混悬液。贝母+桔梗组:贝母 30 g、桔梗 30 g 加 8 倍水煎煮两次,每次 30 min,滤过并浓缩至 1.5 g/mL。巴豆组:取巴豆霜粉末 10 g,加入适量温水中,配制成 0.25 g/mL 混悬液。桔梗组:桔梗 30 g 加 8 倍水煎煮两次,每次 30 min,滤过并浓缩至 0.75 g/mL。贝母组:贝母 30 g 加 8 倍水煎煮两次,每次 30 min,滤过并至 0.75 g/mL。正常对照组与模型对照组均灌胃生理盐水;阳性对照组:取盐酸氨溴索片适量,研碎后加入适量水混悬。

2 方法

2.1 分组与造模

取小鼠 100 只,雌雄各半,均分为 10 组,分别是正常对照组、模型对照组、阳性对照组、三物白散全方组、巴豆+贝母组、巴豆+桔梗组、贝母+桔梗组、巴豆组、桔梗组和贝母组。除正常对照组外,各组实验动物均进行造模。将小鼠每天早上置于冰水浴中水浴 5 min,下午 ig 冰水(20 mL/kg),连续造模 3 d 后,各组给予相应的药物。参考孙广仁等^[3]关于评价成功建立慢性阻塞性肺疾病寒饮蕴肺证大鼠模型的方法,以确定模型建立是否成功。

2.2 给药

各实验组连续灌胃给药 7 d,1 次/d,正常对照、模型对照组分别 ig 生理盐水 0.5 g/kg,阳性对照组给药剂量为 30 g/kg,其他 7 组给药剂量分别为 35、

20、20、30、5、15、15 g/kg。末次给药前禁食不禁水 12 h。参考文献方法^[4],末次给药 30 min 后,ip 0.5%酚红溶液 0.5 mL/只。30 min 后,颈椎脱臼处死小鼠,仰位固定于手术板上,剪开颈前皮肤,分离气管,剥去气管周围组织,剪下自甲状软骨至气管分支处的一段气管,放进盛有 3 mL 生理盐水的试管中冲洗,再加入 5%碳酸氢钠溶液 0.1 mL。将气管灌洗液离心,取上清液,用酶标仪(波长 570 nm)测定吸光度(A)值,计算祛痰指数^[5];将各实验动物两侧肺叶取出,称定质量,计算肺质量系数^[6]和肺质量抑制率,并进行组间比较。

祛痰指数=(给药组 A 值/模型对照组 A 值)×100%

肺质量系数=肺叶质量/体质量×100%

肺质量抑制率=(模型对照组平均肺质量系数-实验组平均肺质量系数)/模型对照组平均肺质量系数×100%

2.3 数据处理

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 13.0 中 One-way ANOVA 检验判断组间差异,采用聚类分析法进行层级聚类。

3 结果

3.1 三物白散拆方各组对小鼠祛痰作用的影响

以各组 A 值、祛痰指数、肺质量系数、肺质量抑制率作为评价指标,结果见表 1。可见与模型对照组比较,阳性对照组、全方组、巴豆+贝母、巴豆+桔梗组均能明显促进 A 值和祛痰指数增加,肺质量系数降低($P < 0.05$),说明阳性对照、全方、巴豆配伍桔梗、巴豆配伍贝母均有较强的祛痰效果;与全方组比较,唯有阳性对照组、巴豆+贝母、巴豆+桔梗组差异无显著性($P > 0.05$),说明具有较强祛痰效果的几个实验组中,阳性药、巴豆合用桔梗、巴豆合用贝母和全方的祛痰效果相差不明显。

3.2 三物白散拆方研究各实验组聚类分析结果

以祛痰指数和肺质量抑制率为评价指标,将 7 个实验样本采用 SPSS 13.0 进行层级聚类分析^[7]。采用组间内均值连接法连接样本点群,测量欧式距离,用组间内最短距离法作图,见图 1。可见当距离小于 14 时,拆方后所得的 7 种配伍组合分成 4 类,结合实验指标的排序情况,按照对此动物模型的祛痰作用的强弱,依次分为:三物白散全方为第一类,巴豆配伍桔梗、巴豆配伍贝母为第二类;不含巴豆的 3 种组合为第三类;单用巴豆的为第四类。结合这 4 类的祛痰作用强弱可见,三物白散中配伍

表 1 三物白散及其组方药味对小鼠祛痰作用的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)Table 1 Expectorant effect of Sanwubai Powder and its prescription on mice ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组 别	A 值	祛痰指数/%	肺质量系数/%	肺质量抑制率/%
正常对照	0.036±0.002 ^Δ	84.00	0.65±0.04 ^Δ	
模型对照	0.042±0.006 ^Δ	100.00	1.36±0.12 ^Δ	
阳性对照	0.094±0.009 [*]	223.81	0.95±0.14 [*]	30.14
三物白散全方	0.085±0.014 [*]	202.38	1.02±0.12 [*]	25.00
巴豆+贝母	0.072±0.011 [*]	171.43	1.16±0.13	14.71
巴豆+桔梗	0.074±0.015 [*]	176.19	1.14±0.17 [*]	16.17
贝母+桔梗	0.063±0.012 ^Δ	150.12	1.24±0.20 ^Δ	8.82
巴豆	0.047±0.011 ^Δ	111.90	1.31±0.23 ^Δ	3.68
桔梗	0.057±0.008 ^Δ	135.71	1.26±0.19 ^Δ	7.35
贝母	0.060±0.014 ^Δ	142.86	1.27±0.17 ^Δ	6.62

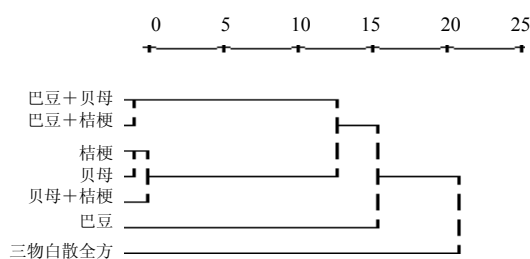
与模型对照组比较: ^{*} $P<0.05$; 与全方组比较: ^Δ $P<0.05$ ^{*} $P<0.05$ vs model group; ^Δ $P<0.05$ vs whole prescription group

图 1 三物白散及其组方药味祛痰作用的聚类分析树形图

Fig.1 Clustering analysis dendrogram derived from expectorant effect of Sanwubai Powder and its prescription

巴豆前后对其药效作用具有显著性影响,说明巴豆在全方中具有不可替代的作用。

4 讨论

目前祛痰实验中还未建立适宜于中医症候的动物模型,三物白散用于“寒痰证”,因此建立符合或接近“寒痰证”病机的动物模型是本实验的关键。本研究依据中医“寒痰因形寒饮冷”、“若由外寒而生者,……二日寒痰,即冷痰也”、“寒痰者,因冲冒风凉、不节之气而然也”理论,根据寒痰因形寒饮冷的原理,通过冰水浴和灌胃冰水的方法进行造模,使本实验更符合中医药“辨证施治”的特色。

三物白散方以巴豆之辛热,温通寒实,攻逐痰水;贝母涤痰散结,桔梗开泄肺闭。全方药性峻猛,《金匱要略》中用于治疗肺痈,虽为经典之法,但若非确为寒痰阻滞于肺者,则未可轻投。三物白散具有抗肿瘤免疫、抗细胞免疫等作用^[8-9],但对其祛痰作用的机制以及配伍机制还未见报道。本研究以拆方的形式,通过对不同药味组合的药效考察,采用

层级聚类分析,阐明全方中巴豆对其祛痰药效的表达具有极其重要的作用。

巴豆为有毒之品,但在实验过程中发现巴豆组的实验动物状态明显比三物白散全方组及巴豆配伍桔梗组的动物状态差,提示巴豆配伍桔梗可起到增效减毒的作用,桔梗在全方中起到“引经报使”的作用,有待于进一步研究。

参考文献

- [1] 张 波, 张 青, 刘孟安. 寒实结胸证的方名当以“三物白散”为是 [J]. 国医论坛, 2004, 19(6):4.
- [2] 李 延, 田代华. 医学入门 [M]. 下册. 卷五. 北京: 人民卫生出版社, 2006.
- [3] 孙广仁, 薛武更, 高 博, 等. 慢性阻塞性肺疾病寒饮蕴肺证大鼠模型评价 [J]. 世界中西医结合杂志, 2008, 3(11): 635-639.
- [4] 李仪奎. 中药药理实验方法学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2006.
- [5] 周 宜, 丁 红, 阎博华, 等. 不同基源川贝母镇咳、祛痰功效差异性实验研究 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2010, 15(6): 612-616.
- [6] 焦芳芳, 刘世青, 李 飞, 等. 化痰理肺方对大鼠肺间质纤维化时 Smad7 和 TGF- β 表达的影响 [J]. 山东大学学报: 医学版, 2007, 45(10): 1054-1058.
- [7] 袁久荣, 卢亮伟, 容 蓉, 等. 计算机辅助分析四物汤补血作用配伍机理的研究 [J]. 中国实验方剂学, 2000, 6(1): 36-39.
- [8] 王毛妮, 周春祥, 孙秀娟. 三物白散对 Ana-1 巨噬细胞免疫功能的影响 [J]. 河南中医, 2008, 28(1): 31-33.
- [9] 赵志英, 周春祥. 三物白散抗肿瘤过程中免疫正相调节机制研究 [J]. 福建中医药, 2006, 37(6): 48-49.