

## 配伍禁忌半夏、贝母对乌头汤抗氧化活性的影响

李世哲<sup>1</sup>, 陈瑞战<sup>1\*</sup>, 齐瑶<sup>2</sup>, 皮子凤<sup>2\*</sup>, 宋凤瑞<sup>2</sup>, 刘志强<sup>2</sup>

(1. 长春师范学院, 长春 130032; 2. 中国科学院长春应用化学研究所, 长春 130022)

**[摘要]** 目的: 考察乌头汤中加入半夏、贝母对抗氧化活性的影响, 从抗氧化活性角度验证乌头反半夏与贝母的科学性。方法: 分别以 FRAP 法测定总抗氧化活性, 对 DPPH· 的清除能力测定清除自由基的活性。对比乌头汤中加入生半夏、川贝母与乌头汤的抗氧化活性, 同时考察单煎制川乌、制川乌分别与反药及其他组方药配伍的抗氧化活性。结果: 乌头汤与生半夏、川贝母配伍均会对抗氧化活性有一定的抑制作用, 其中与川贝母的配伍降低作用最为明显。结论: 乌头汤与生半夏, 川贝母配伍会降低其抗氧化活性。

**[关键词]** 乌头汤; 抗氧化活性; 半夏; 贝母; 配伍

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)08-0198-05

**[doi]** 10.11653/syfy2013080198

## Effect of Pinelliae Rhizoma and Fritillariae Thunbergli Bulbus on Antioxidant Activity of Wutou Decoction

LI Shi-zhe<sup>1</sup>, CHEN Rui-zhan<sup>1\*</sup>, QI Yao<sup>2</sup>, PI Zi-feng<sup>2\*</sup>, SONG Feng-rui<sup>2</sup>, LIU Zhi-qiang<sup>2</sup>

(1. Changchun Normal University, Changchun 130032, China;

2. Changchun Institute of Applied Chemistry, Changchun 130022, China)

**[Abstract]** **Objective:** The effect of Pinelliae Rhizoma and Fritillariae Thunbergli Bulbus on antioxidant activity of Wutou decoction (WTD) was studied to validate the scientific of aconite incompatibility. **Method:** The total antioxidant activity of different samples was determined by ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay and DPPH· scavenging assay. The different antioxidant activities of WTD were compared to the WTD added with Pinelliae Rhizoma (RP) and Sichuan fritillary (SF) respectively. Moreover, the antioxidant activities of Monkshood Prepared (PM), PM with opposing herbal remedies and PM with the other herb medicine in WTD. **Result:** The antioxidant activities of WTD were inhibited by RP and SF. The inhibition activity of SF was more obviously. In the combination between WTD and ZF or PM and ZF, the total antioxidant activity was both enhanced. **Conclusion:** The antioxidant activities were decreased in the combination between WTD and RP or WTD and SF.

**[Key words]** Wutou decoction; antioxidant activity; Pinelliae Rhizoma; Fritillariae Thunbergli Bulbus; combination

乌头汤, 最早出自汉代张仲景所著《金匮要略》, 具有散寒除湿、除痹止痛的功效, 主治不可屈

伸、寒湿痹证等<sup>[1]</sup>。传统中医理论中所记载的“半夏贝母及攻乌”, 就提到了半夏、贝母与乌头相反,

**[收稿日期]** 20121119(020)

**[基金项目]** 国家重点基础研究发展计划(“973 计划”)(2011CB505300-05); 国家自然科学基金项目(81274046); 吉林省自然科学基金项目(201215147)

**[第一作者]** 李世哲, 在读硕士, 从事天然产物分析研究, Tel: 0431-86168868, E-mail: lishizhe\_2008@126.com

**[通讯作者]** \* 陈瑞战, 博士(后), 教授, 硕士生导师, 从事天然产物分析, Tel: 0431-86168868, E-mail: rzchen@yeah.net; \* 皮子凤, 硕士, 副研究员, 从事中药活性成分筛选及作用机制研究, E-mail: mslab21@ciac.net.cn

不能配伍使用。但是关于此类中药配伍到底相反与否,历来说法不一,时至今日,有关“十八反”科学性的争论仍在继续<sup>[2-4]</sup>。近些年来,越来越多的研究表明,各种疾病的致病因素与自由基的氧化作用有关系,各种药物的对疾病的疗效也与其抗氧化效果有着一定的关系<sup>[5-6]</sup>。根据 Kamanl 的研究发现脂质过氧化对风湿痹证的致病起着重要作用<sup>[7]</sup>,而乌头类复方药又被广泛用于对痹证的治疗,其抗氧化作用是其疗效的一个重要因素。

FRAP 法是一种基于氧化还原反应测定抗氧化活性的方法,它不是针对一种自由基的清除能力<sup>[8]</sup>,而是检测样品总抗氧化能力。DPPH·清除法是一种被广泛使用的抗氧化能力检测方法<sup>[9]</sup>。大量的研究证明,将这两种方法配合使用,可以更加综合的判定物质的抗氧化活性<sup>[10-12]</sup>。根据李晓梅等的研究表明,FRAP 法、DPPH·清除法等体外抗氧化筛选方法与体内抗氧化作用具有一致性<sup>[13]</sup>,所以本文采用 FRAP 法与 DPPH·清除法研究反药半夏、贝母对乌头汤总抗氧化活性和清除自由基能力的影响,比较组方药物与反药对川乌抗氧化活性的差异,试图从抗氧化角度阐明乌头反半夏、贝母的科学性。

## 1 材料与方法

**1.1 试剂、仪器与药材** 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 购自 Sigma 公司,2,4,6-三吡啶基三嗪(TPTZ)购自上海晶纯实业有限公司。抗坏血酸(Vc),甲醇、冰醋酸、盐酸、三氯化铁均为分析纯,购自北京化工厂。制川乌、生半夏、川贝母、浙贝母、麻黄、白芍、黄芪、甘草均购自北京华蓓中药工程技术开发中心,经长春中医药大学王淑敏老师鉴定,将药材粉碎,过 40 目筛,备用。Spectra FLOUR plus 酶标仪(瑞士 TECAN 公司)。

**1.2 药液的提取** 按照《金匱要略》记载的乌头汤方剂配药:分别称取川乌 6 g,黄芪 9 g,麻黄 9 g,甘草 9 g,白芍 9 g 粉末,混合后,加入 10 倍量的水,浸泡 1 h,在微沸状态下回流提取 1.5 h,取上清液,将药渣再加入 8 倍量的水,再提取 1.5 h,合并上清液,制得乌头汤水煎液。根据李文林等人的统计分析,在复方中配伍应用时,乌头与半夏的剂量分布以 1:1 应用最多,此外是乌头用量小于半夏的情况<sup>[14]</sup>。为了更具体研究川乌与反药配伍剂量对抗氧化作用的关系,设计了反药剂量的高,中,低 3 种配伍比例(1:1,1:2,2:1),按照上述提取方法分别制备乌头汤加生半夏、川贝母的共煎液。

按照上述提取方法,分别制备制川乌单煎液以

及制川乌分别与生半夏和川贝母按照 1:1,1:2,2:1 制得反药药对共煎液,与黄芪、麻黄、甘草与白芍分别以 1:2 制得正药药对共煎液。将所有样品水煎液统一冻干,置于干燥器中保存备用。临用时以制川乌生药量为准,分别配成不同浓度的药液。

**1.3 FRAP 法测定总抗氧化活性** 分别配制 pH 3.6 的 300 mmol·L<sup>-1</sup> 醋酸钠缓冲液,10 mmol·L<sup>-1</sup> TPTZ 溶液(溶解在 40 mmol·L<sup>-1</sup> 盐酸中)和 20 mmol·L<sup>-1</sup> FeCl<sub>3</sub> 溶液,并以 10:1:1 的比例混合配制成 FRAP 试剂。取 5 μL 不同浓度样品或对照品溶液加入 96 孔板中,迅速加入 FRAP 试剂 150 μL。在 592 nm 下测定 0,4 min 时样品和对照品的吸光度(A)值,每个样品平行测定 3 次。以 500 μmol·L<sup>-1</sup> Vc 溶液作为对照品,计算样品的 FRAP 值,实验结果按下式计算:

$$\text{FRAP 值} = (0 - 4 \text{ min } \Delta A_{592 \text{ 样品}}) / (0 - 4 \text{ min } \Delta A_{592 \text{ 对照品}}) \times 500 (\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$$

**1.4 DPPH·清除能力测定** 取不同浓度的待测样品溶 40 μL 加入 96 孔板中,加入 200 μL (6.5 × 10<sup>-5</sup> mol·L<sup>-1</sup>) DPPH·甲醇溶液,避光静置反应 0.5 h,于 515 nm 处测定 A<sub>i</sub>。对 DPPH·的清除率可表示为:

$$\text{清除率} = [1 - (A_i - A_j) / A_c] \times 100\%$$

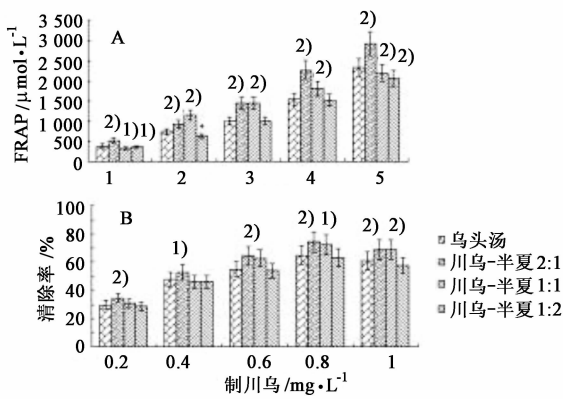
其中 A<sub>i</sub> 为 DPPH·与样品反应后的吸光度,A<sub>j</sub> 为空白样品(40 μL 样品 + 200 μL 甲醇)的吸光度,A<sub>c</sub> 为未加样的 DPPH·(40 μL 水 + 200 μL DPPH·)的吸光度,每一待测样品平行测定 3 次,取其平均值。

## 2 结果与分析

### 2.1 乌头汤与生半夏配伍后抗氧化活性的变化

**2.1.1 乌头汤与生半夏配伍** 由图 1(A)可见,乌头汤、乌头汤加生半夏不同比例组的总抗氧化活性皆随着制川乌浓度的增加而增加,具有一定的浓度依赖性。但是在制川乌生药量相同的情况下,随着半夏含量的升高,配伍后抗氧化活性逐渐降低。以制川乌 4 g·L<sup>-1</sup> 为例,乌头汤-生半夏 2:1 的复方提取物,其总抗氧化活性显著高于乌头汤组(P < 0.01),而乌头汤-生半夏 1:1 的总抗氧化活性也高于乌头汤(P < 0.05),而乌头汤-生半夏 1:2 的比例却与乌头汤组无明显差别。这说明在乌头汤中加入生半夏,可以促进其总抗氧化活性,然而随着生半夏加入量的增加,其作用会逐渐降低。

由图 1(B)所示的乌头汤与生半夏配伍对 DPPH·的清除率可以看出与总抗氧化相同的变化趋



与相同剂量乌头汤相比<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ,  
<sup>2)</sup> $P < 0.01$  (图 2 ~ 5 同)

图 1 乌头汤与半夏配伍总抗氧化活性(A) 以及对 DPPH·清除率(B)

势,随着浓度的增加,乌头汤、乌头汤加生半夏不同比例组对 DPPH·清除能力均相应增加,但是随着生半夏加入量的增多对清除能力的促进作用降低。以制川乌 0.8 g·L<sup>-1</sup>为例,乌头汤-生半夏 2:1 的提取物对 DPPH·清除能力显著高于乌头汤组 ( $P < 0.01$ ),但是随着半夏加入量增加,清除能力显著降低。综合以上结果,乌头汤中加入少量生半夏可以提高复方的抗氧化能力,但是在制川乌生药量相同的情况下,随着生半夏加入量的增加其对抗氧化活性的促进作用减弱。

**2.1.2 制川乌与生半夏配伍** 从图 2(A)可见,制川乌以及生半夏 3 个不同配伍比例共煎的总抗氧化活性,随着生药量的增加而增加。在制川乌浓度相同的情况下,制川乌-生半夏 2:1, 1:1 的活性超过了单煎川乌的活性,而制川乌-生半夏 1:2 的活性却远远低于单煎川乌 ( $P < 0.05$ )。结果表明:制川乌与生半夏配伍对总抗氧化活性有着一定的促进作用,然而随着生半夏加入量的增加,会使总抗氧化活性降低。

生半夏对制川乌清除 DPPH·能力的影响见图 2(B)。由图 2(B)可以发现制川乌与生半夏 3 种配伍比例共煎液对 DPPH·的清除率均低于制川乌单煎液,并且其清除能力的大小关系为配伍比例 2:1 > 1:1 > 1:2,其中配伍比例 1:2 在生药量 5 g·L<sup>-1</sup>之前对 DPPH·没有清除能力,这说明制川乌与生半夏配伍会大大降低对 DPPH·的清除能力 ( $P < 0.01$ ),而随着生半夏加入量的增加,其减弱的趋势明显。综上所述,制川乌与生半夏配伍在会对总抗氧化活性有促进作用,但是随着生半夏剂量的升高会表现出

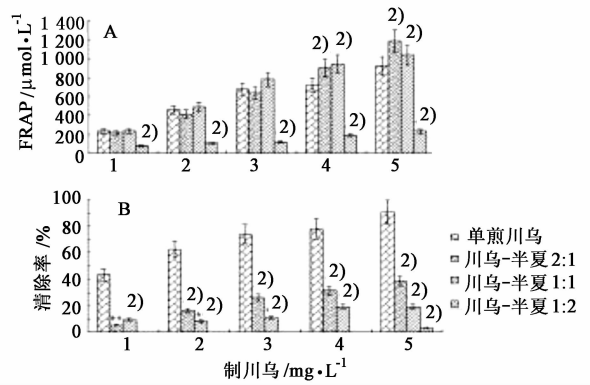


图 2 川乌半夏配伍总抗氧化活性(A) 以及对 DPPH·清除率(B)的影响( $\bar{x} \pm s$ )

对活性的抑制作用。而制川乌与生半夏配伍对于 DPPH·的清除能力而言有着明显抑制作用,并且随着生半夏剂量升高抑制作用越明显。综合考虑,制川乌与生半夏配伍会抑制其抗氧化活性,并且半夏剂量越高,抑制作用越明显。

**2.2 川乌与其他组方药配伍** 为了与川乌同反药配伍在抗氧化作用方面的相反作比较,选择川乌与麻黄、白芍、甘草和黄芪以 1:2 的比例进行配伍共煎,考察其抗氧化活性,结果见图 3。从图 3(A)可见,川乌与麻黄、白芍、甘草和黄芪共煎液的总抗氧化活性都比川乌单煎液有着一定的提高。而图 3(B)可见川乌与麻黄和白芍配伍明显提高了对 DPPH·的清除能力,而川乌与甘草和黄芪配伍共煎也对 DPPH·的清除能力有着略微的促进。在川乌生药量相同的情况下,加入麻黄、白芍、甘草和黄芪进行配伍对抗氧化作用均产生了一定的促进作用。比较制川乌与生半夏、4 种组方药配伍后抗氧化活性的变化,生半夏的加入,会使制川乌清除 DPPH·的能力显著降低,而在乌头汤中加入生半夏,由于其他组方药物的具有促进川乌清除 DPPH·的能力,使得生半夏的抑制作用在高浓度时才表现出来。

**2.3 乌头汤与川贝配伍后抗氧化活性的变化**

**2.3.1 乌头汤与川贝配伍** 乌头汤与不同比例川贝配伍前后总抗氧化活性的变化如图 4(A)所示,随着浓度的增加,乌头汤、乌头汤与川贝不同配伍比例的水煎液总抗氧化活性均随着浓度增加而增加,其中乌头汤-川贝 2:1 的活性与乌头汤相比有显著提高 ( $P < 0.01$ ),比例 1:1 与 1:2 与乌头汤相比也有所提高,但是远低于比例 2:1。这说明乌头汤中加入少量川贝可以促进总抗氧化活性,但是随着川贝加入量增加,促进作用减弱。

从图 4(B)可见,乌头汤与川贝配伍对 DPPH·

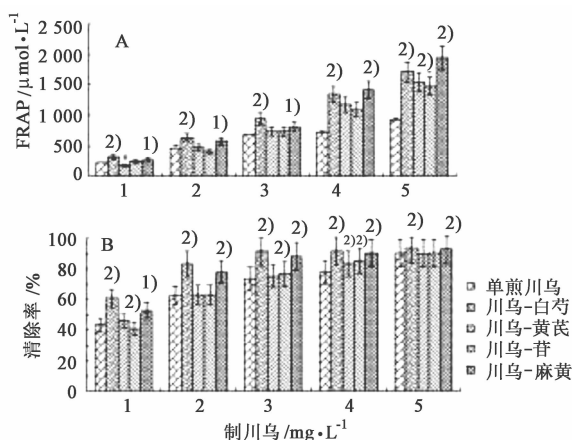


图3 川乌与其他组方药共煎的总抗氧化活性(A)以及对DPPH·清除率(B)的影响( $\bar{x} \pm s$ )

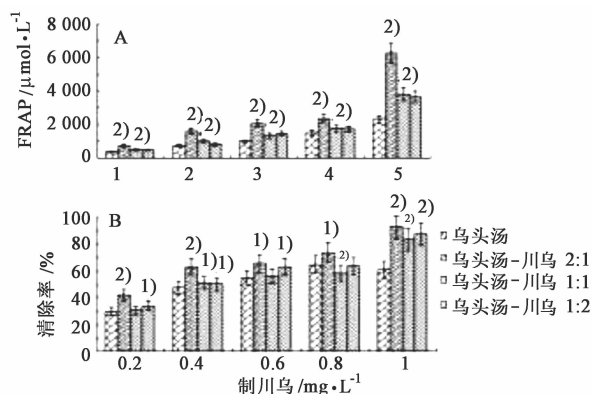


图4 乌头汤与川贝配伍总抗氧化活性(A)以及对DPPH·清除率(B)的影响( $\bar{x} \pm s$ )

清除能力的变化趋势与总抗氧化活性基本相同,乌头汤中加入少量川贝对乌头汤的抗氧化作用有促进作用,然而在制川乌药量相等的情况下,随着川贝加入量的增加,其对抗氧化活性的促进作用减弱。

**2.3.2 制川乌与川贝配伍** 制川乌与川贝配伍对总抗氧化活性的影响见图5。从图5(A)可见,制川乌与川贝的3种配伍比例共煎的总抗氧化活性随着浓度的增加而增加,但均低于制川乌单煎,比例1:1与2:1活性相近,但是明显低于川乌单煎( $P < 0.01$ ),比例1:2的活性又明显低于比例1:1与2:1。这意味着川乌与川贝配伍会使总抗氧化活性降低,并且川贝加入量越多降低的越明显。

制川乌与川贝配伍对DPPH·的清除能力的影响见图5(B)。制川乌与川贝配伍共煎液对DPPH·的清除率也明显低于制川乌单煎液,而且3种配伍比例的清除率能力大小关系为2:1 > 1:1 > 1:2,表明制川乌与川贝配伍会降低对DPPH·的清除能力,随着川贝药量的增加,其降低越明显。因此,制川乌

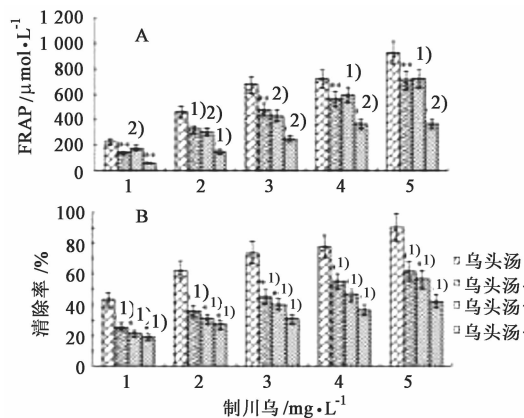


图5 川乌川贝配伍总抗氧化活性(A)以及对DPPH·清除率(B)的影响( $\bar{x} \pm s$ )

与川贝配伍会明显的降低其抗氧化活性,而且川贝加入量越多降低越明显。

结合其他组方药配伍的抗氧化结果表明,制川乌与川贝配伍会显著降低其抗氧化活性。由于组方中其他药物的存在,其抑制作用相对减弱;随着川贝加入量的增加,抑制抗氧化作用的能力表现得更加显著。

### 3 结果与讨论

本研究表明制川乌与生半夏和川贝母配伍均会对抗氧化活性有一定的抑制作用,这可能与配伍共煎的化学成分变化有关。研究表明乌头类药物的主要药效成分,亦是其主要毒性成分为双酯型二萜生物碱<sup>[15]</sup>。生川乌与生半夏共煎液中双酯型生物碱含量高于生川乌单煎液。生川乌与法半夏、川贝母共煎液双酯型生物碱含量变化微弱或有所减少<sup>[16]</sup>。而川乌与川贝配伍会使得双酯型生物碱含量低于单煎川乌而川乌与生半夏配伍时双酯型生物碱含量比川乌单煎有所提高。结合抗氧化活性测定,川乌与川贝配伍,可能是由于配伍后双酯型生物碱类成分的减少而使得其抗氧化活性降低。川乌与半夏配伍后,药效成分的增加会使得其总抗氧化活性成分略有提升,但此类物质不会对DPPH·的清除有促进作用。但是随着半夏含量的增加,可能是半夏中的成分具有抑制抗氧化活性的作用,从而导致高剂量时抗氧化活性降低。这方面还有待进一步的系统研究。

通过对乌头汤与反药配伍,川乌与反药配伍以及川乌与乌头汤中其他组方药配伍的抗氧化活性考察表明川乌与生半夏、川贝配伍均会对抗氧化活性有一定的抑制作用,但是在乌头汤复方中因为有其他组方药的存在中和了这种抑制作用。从抗氧化角度说明了乌头反半夏与贝母的科学性。

# 赤雹果总有机酸对大鼠离体子宫平滑肌的作用及机制研究

赵盼<sup>1</sup>, 佟继铭<sup>2</sup>, 刘玉玲<sup>2</sup>, 宋素英<sup>1\*</sup>

(1. 河北联合大学中医学院, 河北 唐山 063000; 2. 承德医学院中药研究所, 河北 承德 067000)

**[摘要]** 目的: 观察赤雹果总有机酸(FTDBP)对大鼠离体子宫平滑肌活力的影响。方法: 选用 8 周龄 Wistar 雌性未孕大鼠, 以子宫平滑肌的收缩频率、收缩幅度指标, 计算子宫平滑肌活力及 FTDBP 的半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)。以盐酸普萘洛尔、盐酸苯海拉明、盐酸雷尼替丁、硫酸阿托品为阻断剂, 观察 FTDBP 对子宫平滑肌作用与  $\beta$ , H<sub>1</sub>, H<sub>2</sub>, M 受体的关系, 探讨 FTDBP 对子宫平滑肌的作用机制。结果: 与模型组比较, FTDBP 剂量组(0.032, 0.064, 0.128 g·L<sup>-1</sup>)和元胡止痛片组对缩宫素所致大鼠离体子宫平滑肌的收缩频率、收缩幅度和活力均有明显的抑制作用( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), IC<sub>50</sub> 为 0.100 24 g·L<sup>-1</sup>; 与模型组比较, 硫酸阿托品组大鼠子宫平滑肌的收缩频率、幅度和活力差异无统计学意义。结论: FTDBP 对大鼠子宫平滑肌活力有明显的抑制作用, 其作用是通过抑制 M 受体实现的, 与 H<sub>1</sub>, H<sub>2</sub>,  $\beta$  受体无关。

**[关键词]** 赤雹果; 总有机酸; 受体; 子宫收缩

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)08-0202-04

**[doi]** 10.11653/syfyj2013080202

**[收稿日期]** 20120803(002)

**[基金项目]** 河北省自然科学基金资助项目(C2006000863)

**[第一作者]** 赵盼, 在读硕士研究生, 从事中医血证研究, Tel: 13673248129, E-mail: zhaopan520313@sohu.com

**[通讯作者]** \* 宋素英, 教授, 从事中医血证研究, Tel: 13673248129, E-mail: plmmssy@163.com

## [参考文献]

- [1] 李克光. 金匱要略译释[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2010: 119.
- [2] 胡熙明. 中华本草精选本[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1996: 47.
- [3] 唐于平, 吴起成, 丁安伟. 对中药“十八反”、“十九畏”的现代认识[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 5(6): 79.
- [4] 景欣悦, 彭蕴茹, 王新敏, 等. 基于药物代谢酶探讨中药“十八反”配伍致毒/增毒机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(7): 281.
- [5] 王晓莹. 天然抗氧化剂抗氧化活性的测定及应用[D]. 西安: 西北大学, 2007.
- [6] 王沛坚, 施旭光. 类风湿关节炎的抗氧化治疗展望[J]. 现代生物医学进展, 2006, 26(3): 39.
- [7] Kamanli A, Naziroglu M, Aydilek N, et al. Plasma lipid peroxidation and antioxidant levels in patients with rheumatoid arthritis. Cell biochemistry and function [J]. Chichester, 2004, 22(1): 53.
- [8] 陈玉霞, 刘建华, 林峰, 等. DPPH 和 FRAP 法测定 41 种中草药抗氧化活性[J]. 实验室研究与探索, 2011, 30(6): 11.
- [9] 刘平怀, 汪春牛, 陈德力, 等. DPPH 法测定青皮加速溶剂萃取提取物的抗氧化活性[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(21): 69.
- [10] 薛海萍, 朱春赞, 芮欣忆, 等. 半枝莲醇提工艺的优化及体外抗氧化活性评价的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(4): 12.
- [11] 邢煜君, 王海燕, 王俊霞, 等. 杠板归抗氧化作用及抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(2): 189.
- [12] 陈瀚, 李进, 李祥, 等. 板蓝根不同提取部位的体外抗氧化活性[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(9): 184.
- [13] 李晓梅, 郭曙光, 康文艺. 山楂提取物的体外和体内抗氧化作用[J]. 精细化工, 2009, 26(4): 348.
- [14] 李文林, 范欣生, 段金殿, 等. 中药十八反的现代临床应用数据分析与思考[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(5): 231.
- [15] 王超, 王宇光, 梁乾德, 等. 乌头与贝母配伍化学成分变化的 UPLC/Q-TOFMS 研究[J]. 化学学报, 2010, 68(16): 1920.
- [16] 刘文龙, 宋凤瑞, 刘志强, 等. 川乌与半夏、瓜蒌、贝母、白蔹、白芨配伍禁忌的化学研究[J]. 化学学报, 2010, 68(9): 889.

[责任编辑 邹晓翠]