

[药 理]

制川乌、白芍配伍对大鼠海马区 P-糖蛋白表达的影响

吴 璐, 闻丽珍, 黎晓丽, 吴维刚, 谭丽霞, 杨华生*
(江西中医药大学, 江西 南昌 330004)

摘要: **目的** 考察制川乌、白芍配伍对大鼠海马区 P-糖蛋白表达的影响。**方法** 24 只大鼠随机均分为正常组、制川乌组、白芍组、配伍组, 给予相应药物凝胶 14 d, RT-PCR 法检测海马区 *Mdr1a* mRNA 表达, Western blot 法检测 P-糖蛋白表达。另取 28 只大鼠随机均分为上述 4 组, 给药后尾静脉注射罗丹明 123, 荧光分光光度法检测罗丹明 123 在脑及血浆中的含有量, 计算通透指数 Kp。**结果** 与正常组比较, 制川乌组、白芍组均可显著下调 P-糖蛋白表达 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 并且前一组对 *Mdr1a* mRNA 表达也有显著抑制作用 ($P < 0.01$)。与制川乌组比较, 配伍组 *Mdr1a* mRNA、P-糖蛋白表达均显著增加 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 与白芍组比较, 配伍组两者表达均呈降低趋势, 但无显著差异 ($P > 0.05$)。与正常组比较, 仅制川乌组通透指数 Kp 显著增加 ($P < 0.05$)。**结论** 制川乌、白芍配伍后, 可降低前者对 P-糖蛋白表达的抑制作用而减毒增效。

关键词: 制川乌; 白芍; 配伍; P-糖蛋白; 海马区

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2018)07-1453-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.07.001

Effects of *Aconiti Radix Cocta* compatibility with *Paeoniae Radix Alba* on P-glycoprotein expression in hippocampal area of rats

WU Lu, WEN Li-zhen, LI Xiao-li, WU Wei-gang, TAN Li-xia, YANG Hua-sheng*
(Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

ABSTRACT: **AIM** To investigate the effects of *Aconiti Radix Cocta* compatibility with *Paeoniae Radix Alba* on P-glycoprotein expression in hippocampal area of rats. **METHODS** Twenty-four rats randomly and equally divided into normal group, *Aconiti Radix Cocta* group, *Paeoniae Radix Alba* group and compatibility group were given corresponding drug gels for fourteen days. The expressions of *Mdr1a* mRNA and P-glycoprotein were detected by RT-PCR and Western blot, respectively. Another twenty-eight rats randomly and equally divided into the aforementioned four groups were given tail vein injection of Rhodamine 123 after administration, then the contents of Rhodamine 123 in brain and plasma were detected by fluorospectrophotometry, and permeability index Kp was calculated. **RESULTS** Both the *Aconiti Radix Cocta* group and *Paeoniae Radix Alba* group shared obviously inhibited P-glycoprotein expression ($P < 0.05$, $P < 0.01$), and the former group manifested with a remarkably inhibited *Mdr1a* mRNA expression as compared with the normal group ($P < 0.01$). The compatibility group was observed with significantly increased expressions of *Mdr1a* mRNA and P-glycoprotein as compared with the *Aconiti Radix Cocta* group ($P < 0.05$, $P < 0.01$), while a tendency of decreased *mdrla* mRNA and P-glycoprotein expressions was noticed as compared with the *Paeoniae Radix Alba* group without obvious differences ($P > 0.05$). The obviously increased Kp was only observable in the *Aconiti Radix Cocta* group in contrast to that in the normal group ($P < 0.05$). **CONCLUSION** After *Aconiti Radix Cocta* compatibility with *Paeoniae Radix Alba*, the inhibitory effect of the for-

收稿日期: 2017-11-24

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81360647); 江西省教育厅科技计划项目 (GJJ150836); 江西省卫计委科技计划项目 (20163008)

作者简介: 吴 璐 (1981—), 女, 硕士, 讲师, 从事中药制剂及传统中药理论研究。Tel: (0791) 87118658, E-mail: wulu456@126.com

* **通信作者:** 杨华生 (1974—), 男, 博士, 副教授, 从事中药制剂及传统中药理论研究。Tel: (0791) 87118645, E-mail: 652477071@qq.com

mer on P-glycoprotein expression can be decreased to reduce toxicity and improve efficacy.

KEY WORDS: *Aconiti Radix Cocta*; *Paeoniae Radix Alba*; compatibility; P-glycoprotein; hippocampal area

制川乌味辛、苦，性热，有毒，具有明显的抗炎、镇痛、免疫调节作用，临床上常用于治疗风湿类疾病，所含有的单、双酯型生物碱既是活性成分，又是毒性成分，主要表现为对神经、心脏的毒性^[1-2]；白芍主要含有芍药苷、芍药花苷，具有抗神经毒性、抗自由基、改善微循环、改善学习记忆功能等作用^[3-4]，两者常配伍使用以达到增效减毒的目的。课题组前期研究发现，两者配伍后可减少 6 个酯型生物碱在脑组织中的分布^[5]；生物药剂学研究表明，血脑屏障与药物在脑组织中的分布密切相关，因此推测配伍后可能通过调节血脑屏障中 P-糖蛋白的表达，进一步影响活性成分在脑组织中的分布，从而发挥增效减毒作用。本实验采用经皮给药方式，通过 RT-PCR、Western blot、荧光分光光度等方法研究制川乌、白芍配伍对海马中 *Mdr1a* mRNA、P-糖蛋白表达，以及 P-糖蛋白底物罗丹明 123 在血液与脑组织之间分布的影响，以阐明其机制。

1 材料

1.1 仪器 NanoDrop ND-2000 核酸蛋白测定仪（美国 Thermo 公司）；A100 PCR 基因扩增仪（杭州朗基科学仪器有限公司）；Cary Eclipse 荧光分光光度计（美国瓦里安技术中国有限公司）；Chemic Doc XRS、Gel Doc XR 凝胶成像仪（美国伯乐公司）；HC-3018R 高速冷冻离心机（安徽中科中佳科学仪器有限公司）；TS-1 摇床（江苏海门其林贝尔仪器制造有限公司）；SPX-150 生化培养箱（上海博泰实验设备有限公司）；DW-86L388A 立式超低温保存箱（青岛海尔特种电器有限公司）；F-A2204B 电子天平（上海精科天美科学仪器有限公司）；XH-C 旋涡混合器（金坛市医疗仪器厂）。

1.2 试剂 Anti-P-Glycoprotein Mouse mAb (C219)（美国 Millipore 公司）；Mouse monoclonal anti-TUBB4 (beta IV Tubulin) antibody（美国 Origene 公司）；ECL 发光底物（美国 Advansta 公司）；预染蛋白 Marker（美国 Bio-Rad 公司）；Goat Anti Mouse IgG (H + L) HRP、RIPA 裂解液、BCA 试剂盒（联科生物技术有限公司）；逆转录、RNA 提取、PCR 试剂盒（美国 Promega 公司）；DNA Marker（天根生化科技有限公司）；Gelred 核酸染色剂（美国 Biosharp 公司）；琼脂糖（法国 Biowest

公司）；罗丹明 123（批号 207K051，美国 Sigma 公司）；其他试剂均为分析纯。

1.3 药物 制川乌、白芍分别购自四川江油恒源药业集团有限公司、亳州市长生中药饮片有限公司，经江西中医药大学付小梅副教授鉴定分别为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaeli* Debx. 母根的炮制品、毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根。白芍提取物^[6]（每 1 g 相当于白芍 14.81 g，芍药苷含有量 263.49 mg/g）、制川乌提取物^[6]（每 1 g 相当于制川乌 222.22 g，以双酯型生物碱计为 10.15 mg/g，以单酯型生物碱计为 23.90 mg/g）。

1.4 动物 SPF 级大鼠，雌雄兼有，体质量 150 ~ 200 g，购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司，许可证号 SCXK（湘）2011-0003。

2 方法

2.1 经皮给药凝胶制备 取羧甲基纤维素钠适量，加纯化水制成含有量 5% 的空白凝胶基质。称取制川乌浸膏、白芍浸膏、空白凝胶基质适量，混合均匀，分别制成含制川乌浸膏（1.9%）、白芍浸膏（28.5%）、制川乌（1.9%）-白芍（28.5%）（相当于两者生药比 1:1）的相应凝胶。

2.2 配伍对 *Mdr1a* mRNA 及 P-糖蛋白表达的影响

2.2.1 动物分组及处理方法 取 SD 大鼠 24 只，雌雄各半，随机分成 4 组，分别为正常组、白芍组、制川乌组、配伍组，每组 6 只。给药前，推剪去除背毛，恢复 1 d 后给药，小鼠乌头碱经皮给药 LD₅₀ 为 25 mg/kg^[7]，折合成大鼠约为 18 mg/kg，结合预实验结果，确定其剂量为 0.027 mg/kg，再根据制川乌浸膏中乌头碱含有量（1.17 mg/g）及凝胶中制川乌浸膏含有量（1.90%），最终确定给药剂量为 0.24 g/200 g，给药面积为 2 cm × 2 cm。正常组给予空白凝胶基质，制川乌组、白芍组、配伍组分别给予相应凝胶，每天 1 次，连续 14 d。各组大鼠于末次给药后禁食不禁水 12 h，颈椎脱臼处死，将大脑沿矢状线切开，去除部分间隙，取出大脑，于 -80 ℃ 冰箱中保存，实验时小心将大脑两侧脑室分离，除去外侧壁上的脑组织，将海马小心从剩余脑组织中剥离^[8]。

2.2.2 *Mdr1a* mRNA 表达检测 按 RNA 提取试剂盒说明书提取海马总 RNA。在逆转录反应体系配置中，加入 RNA 1.5 μg、Random Primers 1 μL、

Oligo (dT)₁₅Primer 1 μL , Nuclease-Free Water 补充至 10 μL , 混匀后进行预变性, 条件为 70 $^{\circ}\text{C}$ 、5 min, 完成后置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冷却 5 min。再向每个样品管中加入 10 μL RT-Mix, PCR 仪中进行逆转录, 条件为 25 $^{\circ}\text{C}$ 、5 min; 42 $^{\circ}\text{C}$ 、60 min; 70 $^{\circ}\text{C}$ 、15 min, 结束后将 cDNA 保存于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 。

PCR 反应体系为模板 cDNA 3 μL , 正向引物 2 μL , 反向引物 2 μL , 2 $\times$ Go Tap[®] Green Master Mix 25 μL , 加入 Nuclease-Free Water 使反应总体积达到 50 μL 。引物由上海生工生物工程股份有限公司合成, *Mdr1a* 正向引物 5'-AGAGGT-GAAGAAAGGGCAGA-3', 反向引物 5'-CGAT-GAACTGGTGGATGTTG-3', 产物长度 302 bp; β -actin 正向引物 5'-AACCCCTAAGGCCAACC-GTG-3', 反向引物 5'-TGCTCGAAGTCTAGGGCAAC-3', 产物长度 344 bp。PCR 反应条件为 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min, 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 56 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 25 s, 循环 30 次后, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 5 min。取 4 μL PCR 产物于 2% 琼脂糖凝胶 (Gelred 和 2% 琼脂糖溶液, 比例 1 : 10 000) 中电泳 30 min (电压 110 V) 后, 置于凝胶成像仪中拍照。然后, 通过 Image Lab 图像处理软件分析各条带的光密度, 以目的条带、 β -actin 条带光密度的比值来表示目的基因的相对表达水平。

2.2.3 P-糖蛋白表达检测 称取 0.1 g 海马组织于 5 mL 玻璃匀浆器中, 加入 1 mL RIPA 裂解液 (含 PMSF), 上下手动匀浆 15 次后, 转移至 1.5 mL 离心管中, 冰上裂解 30 min 后, 4 $^{\circ}\text{C}$ 、12 000 r/min 离心 5 min, 取上清液, BCA 法测定蛋白水平。将 5 $\times$ 上样缓冲液与蛋白样品按 1 : 4 比例混合, 沸水煮 5 min, 配制 8% 分离胶与 5% 浓缩胶后上样, 上样体积 8 μL , 电泳 18 min (70 V), 使样品在同一条水平线上, 再将电压调为 110 V 电泳 1 h, 最后 90 V 恒压电泳 2 h, 将蛋白湿转至 PVDF 膜上。

取 PVDF 膜, 加入 5% 脱脂奶粉 (用 TBST 缓冲液配置), 室温下摇床封闭 90 min 后, TBST 洗膜 3 次, 每次 15 min, 再分别与稀释后的 Anti-P-Glycoprotein Mouse mAb C219 (1 : 100)、Mouse monoclonal anti-TUBB4 (β IV Tubulin) antibody (1 : 3 000) 溶液混合, 摇床上 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, 一抗回收利用, TBST 洗膜 3 次, 每次 15 min, 然后再加入辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的二抗 (1 : 5 000), 摇床上室温孵育 1 h, TBST 洗膜 3

次, 每次 15 min, 滴加 ECL 工作液 3 min 后曝光、显影、定影。通过 Image Lab 图像处理软件检测各条带的光密度, 以目的条带、Tubulin 条带光密度的比值来表示目的蛋白的相对表达水平。

2.3 配伍对 P-糖蛋白外排功能的影响

2.3.1 动物分组及处理方法 取大鼠 28 只, 雌雄各半, 随机分成 4 组, 每组 7 只, 分别为正常组、制川乌组、白芍组、配伍组, 给药方法及剂量同“2.2.1”项。末次给药 12 h 后, 每组取 5 只大鼠 (其余 2 只用于制备标准曲线及空白校正) 尾静脉注射 0.03 mg/mL 罗丹明 123 (0.2 mg/kg), 30 min 后眼眶取血 2 mL, 置于 5 mL 肝素管中, 立即断头处死大鼠, 取脑组织, 血液于 4 $^{\circ}\text{C}$ 、12 000 r/min 条件下离心 10 min, 上清避光保存于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中待测; 取大脑, 小心祛除周围血管, 生理盐水洗净, 吸干, 称定质量, 加入超纯水 (体积为大脑质量的 2 倍), 10 mL 玻璃匀浆器匀浆, 匀浆液置于 2 mL 离心管中, 4 $^{\circ}\text{C}$ 、12 000 r/min 条件下离心 10 min, 上清避光保存于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中待测^[9]。

2.3.2 血浆中罗丹明 123 含有量测定 精密称取 5.0 mg 罗丹明 123 于 5 mL 量瓶中, 甲醇溶解并定容, 即得 1 mg/mL 贮备液, 取适量用生理盐水分别稀释成 6.25、12.5、25、50、100、400 ng/mL, 以及 1.25、25、5、10、20、40 ng/mL 的对照品溶液, 各取 100 μL , 加入 100 μL 空白血浆液或脑匀浆液、800 μL 甲醇, 涡旋混匀, 即得 0.625、1.25、2.5、5、10、40 ng/mL 标准血浆液, 以及 0.125、0.25、0.5、1、2、4 ng/mL 标准脑匀浆, 于 4 $^{\circ}\text{C}$ 、12 000 r/min 条件下离心 10 min, 取 500 μL 上清液至 1 mL 比色皿中, 测定荧光强度 ($\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}}=485\text{ nm}/565\text{ nm}$), 绘制标准曲线。

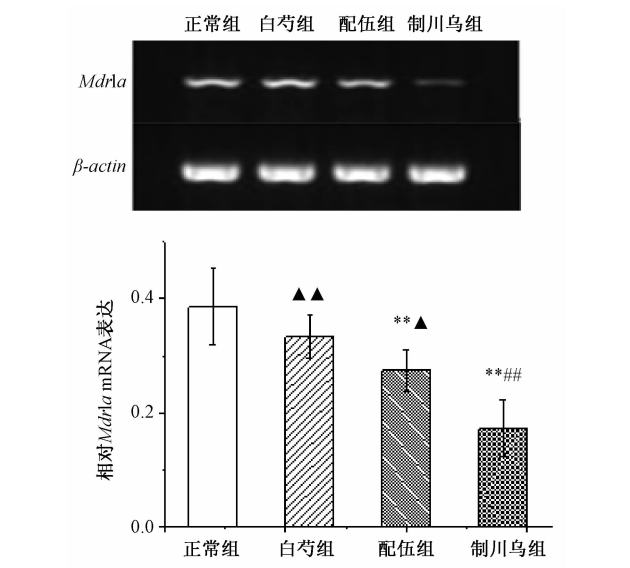
然后, 取血浆 100 μL 、脑匀浆上清液 500 μL 至 2 mL 离心管中, 分别加甲醇至 1 mL, 按上述方法测定罗丹明 123 含有量, 计算通透指数 Kp, 评价 P-糖蛋白的转运功能^[10]。

2.4 统计学分析 应用 SPSS 21.0 软件进行处理, 数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间采用单因素方差分析, $\alpha=0.05$ 为检验水准。P < 0.05 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 配伍对 *Mdr1a* mRNA、P-糖蛋白表达的影响 图1、2 显示, 与正常组比较, 制川乌、白芍均可下调 P-糖蛋白表达 (P < 0.05), 同时制川乌

对 *Mdr1a* mRNA 表达也有显著抑制作用 ($P < 0.01$); 与白芍组比较, 制川乌对 P-糖蛋白表达的抑制作用更强 ($P < 0.01$); 与制川乌组比较, 配伍白芍后 *Mdr1a* mRNA 及 P-糖蛋白的两者表达显著升高 ($P < 0.05$), 表明配伍后降低了制川乌对其的抑制作用, P-糖蛋白活性、外排作用相对增强, 降低了相应物质, 特别是毒性物质在脑组织中的分布, 这可能与制川乌配伍白芍具有“减毒”作用有关; 与白芍组比较, 配伍制川乌后两者表达均呈降低趋势, 表明配伍后增强了白芍对其的抑制作用, P-糖蛋白活性、外排作用相对减弱, 增加了相应物质, 特别是有效成分在脑组织中的分布, 这可能与白芍配伍制川乌具有“增效”作用有关。

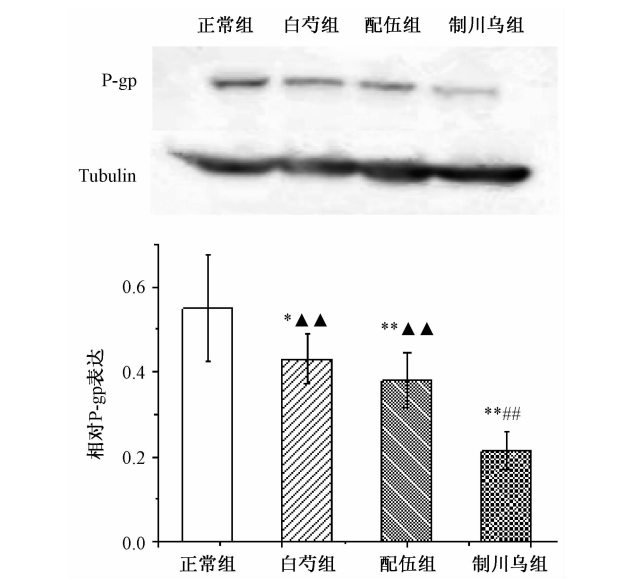


注: 与正常组比较, $**P < 0.01$; 与白芍组比较, $###P < 0.01$; 与制川乌组比较, $▲P < 0.05$, $▲▲P < 0.01$

图1 配伍对 *Mdr1a* mRNA 表达的影响
Fig.1 Effect of compatibility on the expression of *Mdr1a* mRNA

3.2 配伍对 P-糖蛋白外排功能的影响 以荧光强度 (Y) 对质量浓度 (X) 进行线性回归, 得血浆中罗丹明 123 标准曲线为 $Y = 0.084\ 4X + 0.027\ 5$ ($r = 0.999\ 5$), 线性范围 $0.625 \sim 40.0\ \text{ng/mL}$; 脑组织中为 $Y = 0.081\ 2X + 0.008\ 1$ ($r = 0.998\ 9$), 线性范围 $0.125 \sim 4.0\ \text{ng/mL}$, 计算血浆、大脑中罗丹明 123 含有量及 K_p , 结果见表 1。

罗丹明 123 是 P-糖蛋白经典底物, 可在血液和脑组织中分布, 而 K_p 可表征 P-糖蛋白活性^[11]。由表可知, 与正常组比较, 制川乌组 K_p 明显提高 ($P < 0.05$), 而白芍组 K_p 也有增加趋势, 但无显著性差异 ($P > 0.05$); 与制川乌组比较, 配伍白



注: 与正常组比较, $*P < 0.05$, $**P < 0.01$; 与白芍组比较, $###P < 0.01$; 与制川乌组比较, $▲▲P < 0.01$

图2 配伍对 P-糖蛋白表达的影响
Fig.2 Effect of compatibility on the expression of P-glycoprotein

芍后 K_p 明显降低 ($P < 0.05$), 表明白芍可降低制川乌对 P-糖蛋白的抑制作用, 其外排活性相对增强, 这与配伍对 *Mdr1a* mRNA、P-糖蛋白表达的影响一致, 进一步表明两者配伍可降低乌头碱等毒性成分在脑组织中分布, 从而达到“减毒”作用, 其机制可能与 P-糖蛋白活性有关。

表1 配伍对罗丹明 123 含有量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)
Tab.1 Effect of compatibility on the content of Rhodamine 123 ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

组别	血浆中/ (ng·mL ⁻¹)	脑组织中/ (ng·g ⁻¹)	Kp/ (mL·g ⁻¹)
正常组	9.230 ± 1.738	0.756 ± 0.088	0.084 ± 0.016
白芍组	8.945 ± 0.882	0.768 ± 0.163	0.085 ± 0.017 [#]
配伍组	10.107 ± 2.151	0.854 ± 0.104	0.086 ± 0.013 [#]
制川乌组	9.538 ± 1.465	1.030 ± 0.152	0.109 ± 0.014 [*]

注: 与正常组比较, $*P < 0.05$; 与制川乌组比较, $^{\#}P < 0.05$

4 讨论
现代生物药剂学研究表明, 药效、毒性与组织分布密切相关, 而药物分布主要与毛细血管通透性、组织亲和力等生理因素, 以及与药物分子大小、脂溶性等剂型因素密切相关, 同时药物转运体与药物在体内的分布也存在密切关系。本实验通过 RT-PCR、Western blot 法研究制川乌、白芍配伍对大脑中 *Mdr1a* mRNA、P-糖蛋白表达的影响, 并在此基础上进一步分析两者配伍对 P-糖蛋白经典底物罗丹明 123 分布的影响, 即分别从基因转录效

率、蛋白产物量、蛋白外排活性 3 个方面阐述配伍对 P-糖蛋白的影响，并从 P-糖蛋白角度阐明配伍机制。

有文献报道，大鼠给予白芍提取物后，其中的芍药苷能快速分布到大鼠脑组织中，并且在海马中的浓度较高^[12-14]，而且该成分不仅是 P-糖蛋白底物，还能降低维拉帕米对其的抑制作用^[15]；另一方面，制川乌中的双酯型生物碱乌头碱能降低 KBV200 细胞中 P-糖蛋白的表达^[16]。本实验发现，白芍、制川乌均可影响海马中 P-糖蛋白的表达，并且配伍后可降低后者对 P-糖蛋白的抑制作用，从而影响有效成分和/或毒性成分在脑组织中的分布，最终发挥增效减毒作用。

虽然制川乌、白芍均为 P-糖蛋白抑制剂，但与前者单用比较，配伍后 P-糖蛋白活性相对增强；与后者单用比较，配伍后 P-糖蛋白活性相对减弱，表现出截然相反的效应，这可能与中药药效物质的“叠加作用”有关，也称为“多成分单靶点作用”。中药中有效成分种类繁多，但含有量一般都较低，如果每种成分只作用于与其相应的单一靶点，即“多成分多靶点作用”，可能会由于含有量太低而达不到起效的阈值，故推测中药中各成分可能共同作用同一靶点，其产生的效应叠加后发挥药理作用^[17]。本实验发现，白芍中芍药苷、制川乌中酯型生物碱等药效成分的结构属于不同类型，但有共同的作用靶点——“*Mdr1a*”基因，两者配伍后即可产生“叠加作用”。另外，虽然白芍、制川乌均可抑制 P-糖蛋白表达，但存在程度上的差异，相对于前者而言，后者抑制作用更强，两者配伍后由于“叠加作用”的存在，故分别表现出“增强”“减弱”效应。

参考文献：

[1] Lin C C, Chan T Y, Deng J F, *et al.* Clinical features and management of herb-induced aconitine poisoning [J]. *Ann Emerg Med*, 2004, 43(5): 574-579.

[2] 刘 艳, 章诗伟, 周 兰, 等. 乌头类生物碱对心肌的毒性作用及分子毒理学研究进展 [J]. 中国法医学杂志, 2009, 24(6): 398-401.

[3] 杨 军, 何丽娜, 何素冰, 等. 芍药甙对大鼠皮层神经细

胞钙超载损伤的保护作用 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2001, 15(3): 164-168.

[4] 陈广斌, 吴 铁. 芍药苷的神经保护作用研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2008, 19(9): 2298-2300.

[5] 杨华生, 黎晓丽, 闻丽珍, 等. 基于经皮给药途径研究白芍对制川乌 6 个酯型生物碱组织分布的影响 [J]. 药物分析杂志, 2017, 37(6): 1029-1037.

[6] 黎晓丽, 吴 璐, 吴维刚, 等. 在体皮肤微透析法研究制川乌白芍配伍对 6 种酯型生物碱局部药动力学的影响 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(5): 948-954.

[7] 王 平. 乌头碱经皮给药“量-效-毒”关系探讨 [J]. 中药药理与临床, 2013, 29(4): 53-56.

[8] 丁 宁, 冯志启, 赵 薇, 等. 雷公藤内酯对海人酸致痫大鼠海马区 P-糖蛋白表达的影响 [J]. 广西医科大学学报, 2013, 30(4): 541-543.

[9] 朱世璟. 天然活性成分银杏内酯 B 对 P-糖蛋白抑制作用研究 [D]. 合肥: 合肥工业大学, 2015.

[10] 丁 洁, 张 莹, 巫 悦, 等. 麝香、安息香和苏合香对血脑屏障脑区特异性开放作用及其机制 [J]. 中国医院药理学杂志, 2015, 35(4): 279-282.

[11] 辛华雯, 唐 霞, 欧阳 萌, 等. 黄连素对大鼠体内罗丹明 123 药动学的影响 [J]. 中国药师, 2014, 17(8): 1281-1285.

[12] 李 芳, 朱付全, 宋春红, 等. HPLC-ESI-MSⁿ 法鉴定大鼠口服白芍提取物后血清及脑内的化学成分 [J]. 中草药, 2016, 47(14): 2475-2481.

[13] Li T X, Hu L, Zhang M M, *et al.* A sensitive UPLC-MS/MS method for simultaneous determination of eleven bioactive components of Tong-Xie-Yao-Fang decoction in rat biological matrices [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2014, 944: 90-100.

[14] Luo N C, Li Z H, Qian D W, *et al.* Simultaneous determination of bioactive components of *Radix Angelicae Sinensis-Radix Paeoniae Alba* herb couple in rat plasma and tissues by UPLC-MS/MS and its application to pharmacokinetics and tissue distribution [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2014, 963: 29-39.

[15] Chan K, Liu Z Q, Jiang Z H, *et al.* The effects of sinomenine on intestinal absorption of paeoniflorin by the everted rat gut sac model [J]. *J Ethnopharmacol*, 2006, 103(3): 425-432.

[16] 田劭丹, 刘雪强, 王笑民, 等. 乌头碱影响 KBV200 细胞 Pgp 蛋白表达的组化实验 [J]. 中医医学刊, 2006, 24(1): 55-56.

[17] 蔡少青, 王 璇, 尚明英, 等. 中药“显效理论”或有助于阐释并弘扬中药特色优势 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(17): 3435-3443.