

乌头汤加半夏不同炮制品对大鼠 CYP3A 的影响

程再兴^{1,2*}, 陈红¹, 吴锦俊², 林娜^{1,2}

(1. 福建中医药大学药学院, 福州 350122; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的:以乌头汤为载体,研究加入半夏不同炮制品后对大鼠细胞色素 P450 酶系(CYP)3A1/2 的影响,为阐述“十八反”中半夏反乌头的反性内涵提供实验依据。**方法:**CYP3A 酶活性采用体外温孵法和体内探针法进行检测,酶蛋白和 mRNA 表达采用蛋白质免疫印迹法(Western blot)和荧光定量聚合酶链式反应技术进行检测。**结果:**与乌头汤加生半夏组相比,乌头汤加法半夏各剂量组 6 β -羟基睾酮(6 β -OH-Tes)生成速率未发生显著性变化,CYP3A 蛋白表达显著增加($P < 0.01$, $P < 0.05$),CYP3A1 mRNA 的表达仅在 0.60 g·kg⁻¹剂量组显著降低($P < 0.01$);乌头汤加姜半夏在 1.20 g·kg⁻¹剂量组时 6 β -OH-Tes 生成速率极显著降低($P < 0.01$),CYP3A 蛋白表达仅在 0.60 g·kg⁻¹剂量组明显增加($P < 0.05$),CYP3A1 mRNA 的表达在 0.60,1.20 g·kg⁻¹剂量组有显著降低($P < 0.01$);在体内探针法试验中乌头汤加法/姜半夏组 6'-羟基丁螺环酮(6'-OH-BP)和丁螺环酮(BP)的药时曲线下面积(AUC₀₋₄)比值(6'-OH-BP/BP),1-(2-嘧啶基)哌嗪(1-PP)与 BP 的 AUC₀₋₄比值(1-PP/BP)均未发生明显变化。**结论:**不同半夏炮制品增强乌头汤对 CYP3A 的抑制作用的程度不同,这将会导致乌头汤中的双酯型生物碱类成分(如乌头碱)代谢减慢,从而引起药理作用的增强或毒性的增加。

[关键词] 乌头汤;半夏;细胞色素 P450 酶系;睾酮;丁螺环酮;聚合酶链式反应;药代动力学

[中图分类号] R969.1;R943.1;R284;R285;R283 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)20-0090-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017200090

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170731.1052.078.html>

[网络出版时间] 2017-07-31 10:52

Influence of Wutoutang Adding Different Processed Products of Pinelliae Rhizoma on CYP3A in Rats

CHENG Zai-xing^{1,2*}, CHEN Hong¹, WU Jin-jun², LIN Na^{1,2}

(1. College of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China;

2. Institute of Chinese Meteria Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** It was explored in the article that the compatibility connotation of Aconiti Radix and Pinelliae Rhizoma (PR) after the different processed products of PR was added to Wutoutang (WTT) from cytochrome P450 enzyme system (CYP) 3A1/2 medating metabolic herb-herbs interaction in rats. **Method:** The change of CYP3A enzymatic activity was detected by incubation *in vitro* and probe method *in vivo*. The expression of protein and mRNA was determined with Western blot and the fluorescence quantitative polymerase chain reaction (PCR) technology. **Result:** By comparing with WTT adding unprocessed Pinelliae Rhizoma (UPR), the production rate of 6 β -hydroxy-testosterone (6 β -OH-Tes) did not change and the expression of CYP3A protein were increased ($P < 0.01$, $P < 0.05$) in WTT adding Pinelliae Rhizoma Praeparatum (PRP), the mRNA expression of CYP3A1 was decreased ($P < 0.01$) only in 0.60 g·kg⁻¹ group of WTT adding PRP; the production rate of 6 β -OH-Tes was very dramatically decreased ($P < 0.01$) in 1.20 g·kg⁻¹ group of WTT adding Pinelliae Rhizoma

[收稿日期] 20170319(003)

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划(973计划)项目(2011CB505300,2011CB505305);福建中医药大学校级课题(XB2011005);国家教育部与国家中医药管理局科技基础性工作专项(2014FY111100-5)

[通讯作者] *程再兴,博士,讲师,从事中药药理及炮制原理研究,Tel:0591-22861335,E-mail:15300882@qq.com

Praeparatum cum Zingibere et Alumine (PRPZA), the expression of CYP3A protein was increased ($P < 0.05$) only in $0.60 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ group of WTT adding PRPZA, the mRNA expression of CYP3A1 were markedly decreased ($P < 0.01$) in $0.60, 1.20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ groups of WTT adding PRPZA; the ratios between AUC_{0-t} of 6'-hydroxy-buspirone (6'-OH-BP) and AUC_{0-t} of buspirone (BP), AUC_{0-t} of 1-(2-pyrimidinyl)-piperazine (1-PP) and AUC_{0-t} of BP did not change in WTT adding PRP/PRPZA by comparing with WTT adding UPR. **Conclusion:** Different processed products of PR can enhance the inhibition of WTT on CYP3A activity in various degree, which may slower the metabolism of diester diterpenoid alkaloids (such as aconitine) in WTT, and then lead to increase the toxicity or the pharmacological action of WTT.

[Key words] Wutoutang; Pinelliae Rhizoma; cytochrome P450 enzyme system; testosterone; buspirone; polymerase chain reaction; pharmacokinetics

细胞色素 P450 酶系 (CYP) 是介导药物发生代谢性相互作用的主要靶点, 采用探针研究药物对酶活性影响的模式既符合中药多成分、多靶点、整合调节的中医药基本思想, 又能以现代技术进行有效的科学表征, 进而阐述中药配伍组方的科学内涵^[1]。出自《金匱要略》治疗寒湿痹症的代表性方剂乌头汤由制川乌、麻黄、黄芪等 5 味药物组成, 然而现代临床较少原方应用, 多经过化裁后重新组方应用, 如血藤乌头汤、乌头汤加味、加味乌头汤等^[2-5]。因为“十八反”药对为禁用药, 故临床很少会把半夏配入该方化裁应用, 但有许多将川乌和半夏配伍应用治疗相应病症的例子^[6-7], 也有将乌头汤和含半夏的半夏泻心汤合用治疗关节疼痛的报道^[8]。因此, 本实验在前期报道了半夏、川乌、乌头汤以及川乌配伍半夏对 CYP3A 影响^[9-11]的基础上, 选择乌头汤为载体, 在方中加入半夏的不同炮制品, 考察配伍后对大鼠 CYP3A 的影响, 为临床应用川乌与半夏的药对提供实验依据。

1 材料

Micromass Quattro Premier XE 型液质联用仪 (美国 Waters 公司), 1200 系列高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司), BT25S 型精密电子天平 (北京赛多利斯科学仪器有限公司), FE20 型 pH 计 (瑞士梅特勒-托利多公司), Benchmrk Plus 型酶标仪和 Mini-protean Tetra 型垂直电泳系统 (美国 Bio-Rad 公司), MS3 digital 型涡旋振荡器 (德国 IKA 公司), 5810R 型高速离心机 (德国 Eppendorf 公司), Elix 型超纯水系统 (美国 Millipore 公司), CS150NX 型超高速离心机 (日本 Hitachi 公司), ABI 7500 型荧光定量聚合酶链式反应 (PCR) 基因扩增仪 (美国 Applied Biosystems 公司)。

二硫苏糖醇 (DTT), 苯甲基磺酰氟化物 (PMSF), 吉非贝齐 (内标, 纯度 > 98%) 和盐酸丁螺

环酮 (BP · HCl, 纯度 > 98%) 均购自美国 Sigma-Aldrich 公司; 睾酮 (Tes) 和 6 β -羟基睾酮 (6 β -OH-Tes) (日本 Nacalai Tesque 公司, 纯度均 > 98%), 还原型辅酶 A 和 B 溶液 (美国 BD Biosciences 公司), 1-(2-咪啉) 哌嗪 (1-PP) 和 6'-羟基丁螺环酮 (6'-OH-BP) (加拿大 Toronto Research Chemicals Inc. 公司, 纯度均 > 98%), 乙腈、甲酸为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。制川乌、麻黄、白芍、黄芪、炙甘草、生半夏、法半夏、姜半夏等均购自北京华邈中药工程技术开发中心, 经福建中医药大学药学院范世明高级实验师鉴定, 均符合 2015 年版《中国药典》的相关要求。

SPF 级雄性 SD 大鼠, 体重 180 ~ 220 g, 购自广州中医药大学实验动物中心, 合格证号 SCXK (粤) 2008-0020, 本实验的所有动物实验操作均符合中国实验动物福利伦理审查指南的相关规定。

2 方法

2.1 药材的制备 按《金匱要略》乌头汤方中剂量比例分别称取制川乌、白芍、麻黄、黄芪、炙甘草及与制川乌等量的生半夏、法半夏或姜半夏。将制川乌用 10 倍量水浸泡 30 min, 煎煮 30 min, 加入其他药材 (用 10 倍量水浸泡 30 min) 继续煎煮 30 min, 过滤, 得滤液; 第 2 次用 8 倍量水煎煮 30 min, 过滤, 合并 2 次滤液, 减压浓缩后于 $1\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心处理 5 min, 上清液用水稀释成 $0.12 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 药液 (生药质量按制川乌计), 取部分稀释成 $0.06 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $0.03 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的药液, 低温保存。

2.2 肝微粒体体外温孵法试验 130 只大鼠随机分为空白组、乌头汤组、乌头汤加生半夏 (乌加生) 组、乌头汤加法半夏 (乌加法) 组和乌头汤加姜半夏 (乌加姜) 组, 每个给药组再分别设置为 0.30, 0.60, $1.20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 共 3 个剂量组, 连续灌胃给药 7 d (空白组给予同体积生理盐水), 第 8 天在禁食 12 h 后采

用差速离心法制备肝微粒体^[10],于 -80 ℃ 保存备用。肝微粒体总蛋白浓度采用考马斯亮蓝法测定。药物对酶活性变化的影响同样按照文献[10]的方法来测定 6β-OH-Tes 的生成量,并以其生成速率来进行评价。

2.3 蛋白质免疫印迹法 (Western blot) 试验和 PCR 扩增试验 肝微粒体和肝组织中 CYP3A 蛋白和 CYP3A1/2 mRNA 表达的检测按照文献[10]的方法进行,其中 CYP3A 一抗为兔抗鼠抗体(1:20 000,美国 Abcam),二抗为羊抗兔抗体(1:1 000,美国 Santa Cruz),引物序列为 CYP3A1 5'-GGAAATTCGATGTGGAGTGC-3', 3'-AGGTTTGCCTTCTCTTGCC-5'(基因库编号 NM_013105); CYP3A2 5'-AGTAGTGACGATTCCAACATAT-3', 3'-TCAGAGGTATCTGTGTTTCCT-5'(基因库编号 NM_153312); GADH 5'-GGCCTCCAAGGAGTAAGACC-3', 3'-AGGGGAGATT CAGTGTGGTG-5'(基因库编号 NM_017008),并进行药物对 CYP3A 酶影响的评价。

2.4 体内探针法试验 25 只大鼠随机分为空白组、乌头汤组、乌头汤加生半夏组、乌头汤加法半夏组和乌头汤加姜半夏组,每组 5 只,连续灌胃给药 7 d,给药剂量 0.60 g·kg⁻¹(空白组给予同体积生理盐水),第 8 天禁食 12 h 后按 0.50 mg·kg⁻¹尾静脉注射给予盐酸丁螺环酮,并分别于 2,7,15,30,60,90,120,180,300,480,720 min 眼眶静脉丛采血 300~500 μL,于 8 000 r·min⁻¹离心 8 min,分离血浆。血浆样品的处理、检测和分析按文献[10]的方法进行,6'-OH-BP/BP [6'-OH-BP 的药时曲线下面积(AUC_{0-t})除以 BP 的 AUC_{0-t}]和 1-PP/BP (1-PP 的 AUC_{0-t}除以 BP 的 AUC_{0-t})作为评价药物对酶活性影响的指标。

2.5 统计学处理 实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 16.0 软件进行单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示有统计学意义。采用 PK Solutions 2.0 软件计算非房室模型药动学参数。

3 结果

3.1 乌头汤加半夏对 CYP3A 探针睾酮体外代谢的影响 乌头汤加生/法/姜半夏所有剂量组 6β-OH-Tes 生成速率与空白组^[10]相比均显著降低($P < 0.01$),与乌头汤相对应剂量组^[11]相比亦显著降低($P < 0.01$),表明乌头汤加生/法/姜半夏连续给药 7 d 后对大鼠肝脏 CYP3A 活性均有抑制作用,且抑制作用明显强于乌头汤原方。其中加入法半夏引起乌头汤对 CYP3A 抑制作用增强的效果与生半夏无

明显区别,而加入姜半夏在 0.30,0.60 g·kg⁻¹剂量时对 CYP3A 的抑制作用变化也不十分明显,在剂量 1.20 g·kg⁻¹时抑制作用明显加强,甚至超过制川乌单用和制川乌与姜半夏配伍^[10]时对 CYP3A 的抑制作用,这一现象值得进一步的深入研究和临床用药的高度重视。见表 1。

表 1 乌头汤加半夏给药 7 d 后大鼠肝微粒体 I 相代谢体系中 6β-OH-Tes 生成速率的变化 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Production rate of 6β-OH-Tes in phase I metabolism system of rat liver microsomes after administration of Wutoutang adding different processed products of Pinelliae Rhizoma for 7 d ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	生成速率/μmol·g ⁻¹ ·min ⁻¹		
		4 μmol	10 μmol	30 μmol
乌加生	0.3	0.63 ± 0.02	1.04 ± 0.10	1.22 ± 0.02
	0.6	0.64 ± 0.02	1.00 ± 0.04	1.30 ± 0.07
	1.2	0.74 ± 0.04	1.02 ± 0.04	1.35 ± 0.12
乌加法	0.3	0.62 ± 0.09	1.00 ± 0.02	1.32 ± 0.15
	0.6	0.69 ± 0.05	1.08 ± 0.04	1.49 ± 0.09
	1.2	0.63 ± 0.04	1.00 ± 0.10	1.48 ± 0.08
乌加姜	0.3	0.60 ± 0.04	1.12 ± 0.09	1.44 ± 0.04
	0.6	0.61 ± 0.04	1.25 ± 0.11	1.71 ± 0.06 ²⁾
	1.2	0.23 ± 0.03 ²⁾	0.34 ± 0.03 ²⁾	0.56 ± 0.01 ²⁾

注:与对应剂量及底物浓度的乌加生组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ (表 2,3 和图 1 同)。

3.2 乌头汤加半夏对 CYP3A 蛋白和 CYP3A1/2 mRNA 表达的影响 与空白组^[10]蛋白和 CYP3A1 mRNA 相比,仅乌头汤加法半夏 0.30 g·kg⁻¹剂量组蛋白表达未出现明显减少,其他剂量组均显著减少($P < 0.01, P < 0.05$),且在乌头汤加生半夏组 CYP3A 蛋白的表达呈剂量依耐性,随着剂量的增加而减少;在 CYP3A1 mRNA 表达上乌头汤加生/法/姜半夏各剂量组均显著降低($P < 0.05, P < 0.01$)。

与乌头汤^[11]对应剂量组相比,除乌头汤加生/姜半夏在 1.20 g·kg⁻¹剂量组蛋白表达不具有统计学意义($P > 0.05$)外,其余各相应剂量组蛋白表达均显著增加($P < 0.05, P < 0.01$);乌头汤加生半夏各剂量组 CYP3A1 mRNA 表达均显著增加($P < 0.05, P < 0.01$),乌头汤加法半夏在 0.60,1.20 g·kg⁻¹剂量组显著增加($P < 0.01$),乌头汤加姜半夏在 0.60 g·kg⁻¹剂量组亦明显增加($P < 0.05$)。与乌头汤加生半夏相应剂量组比较,乌头汤加法半夏各剂量组 CYP3A 蛋白表达均显著增加($P < 0.05, P < 0.01$),而乌头汤加姜半夏仅在

0.60 g·kg⁻¹ 剂量组明显增加 ($P < 0.05$)；在 CYP3A1 mRNA 的表达上,乌头汤加法半夏 0.60 g·kg⁻¹ 剂量组以及乌头汤加姜半夏 0.60, 1.20 g·kg⁻¹ 剂量组显著降低 ($P < 0.01$)。表明乌头汤加生/法/姜半夏可抑制 CYP3A 蛋白和 CYP3A1 mRNA 的表达,且生/法/姜半夏均可减弱乌头汤抑制 CYP3A 蛋白的表达,生/法半夏也可减弱乌头汤抑制 CYP3A1 mRNA 的表达。CYP3A2 mRNA 的表达在乌头汤加生/法/姜半夏部分剂量组有明显变化,但由于 CYP3A2 在大鼠肝脏内的比例要远低于 CYP3A1^[1],所以乌头汤加生/法/姜半夏引起 CYP3A2 mRNA 表达的变化并不足以影响其对 CYP3A 活性的抑制作用。见图 1 和表 2。

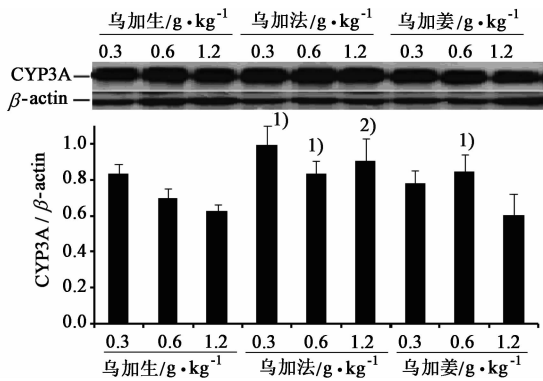


图 1 乌头汤加半夏给药 7 d 后大鼠肝微粒体 CYP3A 蛋白的表达 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig.1 Expression level of CYP3A protein in rat liver microsomes after administration of Wutoutang adding different processed products of Pinelliae Rhizoma for 7 d ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

表 2 乌头汤加半夏给药 7 d 后大鼠肝组织 CYP3A1/2 mRNA 的表达 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Expression level of CYP3A1/2 mRNA in rat liver tissue after administration of Wutoutang adding different processed products of Pinelliae Rhizoma for 7 d ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	CYP3A1 mRNA	CYP3A2 mRNA
乌加生	0.3	0.64 ± 0.04	0.69 ± 0.03
	0.6	0.86 ± 0.10	1.04 ± 0.09
	1.2	0.65 ± 0.08	0.66 ± 0.03
乌加法	0.3	0.60 ± 0.04	0.76 ± 0.11
	0.6	0.59 ± 0.07 ²⁾	1.19 ± 0.12 ¹⁾
	1.2	0.61 ± 0.09	0.84 ± 0.14 ¹⁾
乌加姜	0.3	0.56 ± 0.08	0.86 ± 0.08 ²⁾
	0.6	0.54 ± 0.04 ²⁾	1.33 ± 0.02 ²⁾
	1.2	0.47 ± 0.11 ²⁾	0.72 ± 0.02

3.3 乌头汤加半夏对 CYP3A 探针丁螺环酮体内代谢的影响 与空白组^[10] 6'-OH-BP/BP (0.24 ±

0.06) 和 1-PP/BP (0.30 ± 0.11) 相比,乌头汤加生/法/姜半夏剂量组 6'-OH-BP/BP 均呈增加趋势 ($P < 0.05$),而 1-PP/BP 均呈减少趋势 ($P < 0.05$),且只有乌头汤加姜半夏组 6'-OH-BP/BP 的增加不明显。与乌头汤组^[11] 6'-OH-BP/BP (0.21 ± 0.07) 和 1-PP/BP (0.25 ± 0.06) 相比,乌头汤加生/法/姜半夏组均导致 6'-OH-BP/BP 显著增加 ($P < 0.05, P < 0.01$),而 1-PP/BP 仅在乌头汤加生半夏组出现明显降低 ($P < 0.05$),在乌头汤加法/姜半夏组只呈现降低趋势,但无显著性差异;在乌头汤加法/姜半夏组与加生半夏组间,6'-OH-BP/BP 和 1-PP/BP 均无显著性差异。表明乌头汤中加入生/法/姜半夏后改变了 CYP3A 探针丁螺环酮在大鼠体内的代谢过程,但半夏不同炮制品对此变化的影响无明显区别,至于产生的是抑制还是诱导作用还需要进一步深入研究。见图 2 和表 3。

4 讨论

通过体内和体外酶活性、酶蛋白和 mRNA 表达变化的研究结果分析发现,乌头汤中加入半夏后对 CYP3A 仍产生抑制作用,这一抑制作用强于乌头汤原方对 CYP3A 的抑制作用,尤其加入姜半夏后大剂量给药时会出现较强的抑制作用。制川乌作为乌头汤的君药,其所含的二萜类生物碱(如乌头碱)是乌头汤主要的毒性成分,水解成单酯型和醇胺型生物碱后毒性减弱^[12],所以制川乌通过炮制^[13]和配伍^[14]后,会使二萜类生物碱的含量或煎出量减少,从而降低毒性。同时二萜类生物碱可在体内经过 CYP3A 进一步代谢成毒性较小的单酯型和醇胺型生物碱,制川乌通过其本身对 CYP3A 较强的抑制作用可减慢二萜类生物碱在体内的代谢^[10],而乌头汤通过配伍后可使制川乌对 CYP3A 的抑制作用明显减弱,从而促进二萜类生物碱的代谢^[12]来降低毒性。可是二萜类生物碱同时也是乌头汤镇痛抗炎的主要成分,其含量或煎出量的减少和代谢的增加也有可能致药理作用的减弱。因此,在加入半夏后使乌头汤对 CYP3A 的抑制作用增强,减慢二萜类生物碱的体内代谢,结果是导致毒性的增强还是药理作用的增加,需要看应用过程中制川乌中二萜类生物碱的含量以及煎煮方法和煎煮时间的长短,也就是进入体内的二萜类生物碱含量。

关于乌头与半夏的反性内涵研究主要是从这 2 味药物配伍后在化学、药动学、药效学及毒理学等方面的变化进行探索,且未形成统一的认识。本文是在从 CYP3A 角度研究川乌与半夏不同炮制品配伍

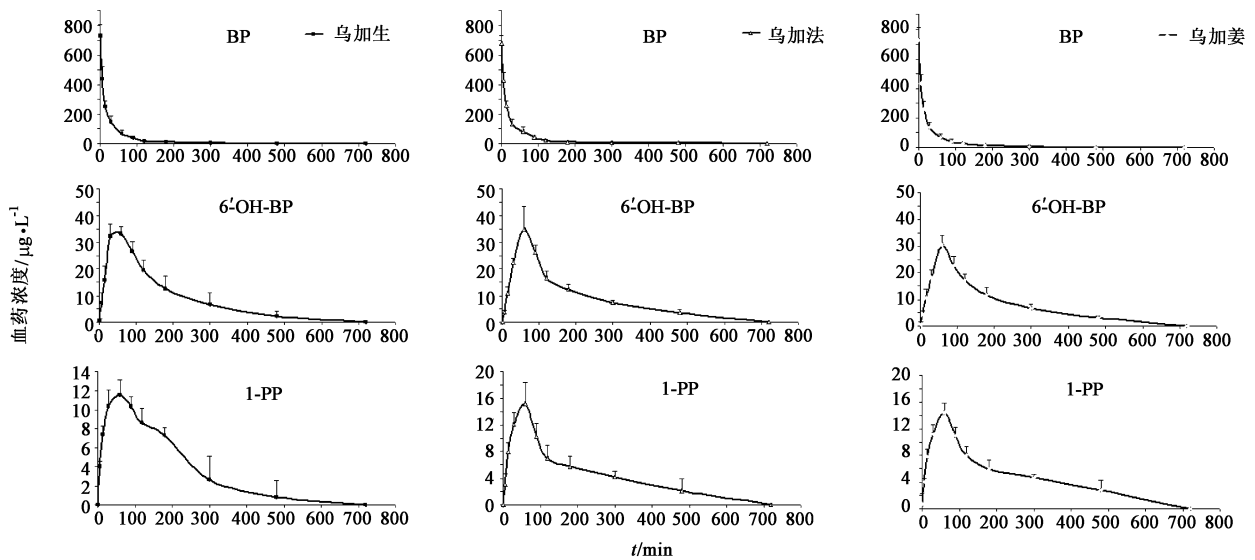


图 2 乌头汤加半夏 (0.60 g·kg⁻¹) 给药 7 d 后大鼠体内 BP 及代谢产物 6'-OH-BP 和 1-PP 的血药浓度-时间曲线 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

Fig. 2 Concentration-time profiles of BP, 6'-OH-BP and 1-PP in rats after administration of Wutoutang adding different processed products of Pinelliae Rhizoma with 0.60 g·kg⁻¹ for 7 d ($\bar{x} \pm s, n=5$)

表 3 乌头汤加半夏 (0.60 g·kg⁻¹) 给药 7 d 后大鼠体内 BP 及代谢产物 6'-OH-BP 和 1-PP 的药动学参数 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

Table 3 Pharmacokinetics parameters of BP, 6'-OH-BP and 1-PP in rats after administration of Wutoutang adding different processed products of Pinelliae Rhizoma with 0.60 g·kg⁻¹ for 7 d ($\bar{x} \pm s, n=5$)

成分	参数/单位	乌加生组	乌加法组	乌加姜组
BP	AUC _{0-t} /mg·min·L ⁻¹	17.11 ± 2.62	17.71 ± 2.59	18.00 ± 3.33
	C _{max} /µg·L ⁻¹	728.83 ± 75.85	677.86 ± 52.58	726.77 ± 82.10
	t _{1/2} /min	409.35 ± 210.52	256.75 ± 46.56	250.15 ± 66.17
	CL/mL·min ⁻¹ ·kg ⁻¹	26.94 ± 6.14	27.99 ± 4.23	27.79 ± 5.09
	V _d /L·kg ⁻¹	16.75 ± 8.78	10.26 ± 1.65	9.94 ± 3.14
6'-OH-BP	AUC _{0-t} /mg·min·L ⁻¹	6.18 ± 1.47	6.20 ± 0.28	5.64 ± 0.56
	C _{max} /µg·L ⁻¹	35.70 ± 2.36	35.94 ± 6.85	30.37 ± 3.56
	t _{max} /min	48.00 ± 16.43	66.00 ± 13.42	60.00 ± 0.00
	t _{1/2} /min	109.47 ± 36.95	178.79 ± 51.21	162.19 ± 25.72
	CL/mL·min ⁻¹ ·kg ⁻¹	84.75 ± 20.47	80.77 ± 3.58	89.43 ± 8.74
1-PP	AUC _{0-t} /mg·min·L ⁻¹	2.62 ± 6.18	3.03 ± 0.82	3.29 ± 0.57
	C _{max} /µg·L ⁻¹	11.77 ± 1.33	15.81 ± 2.25	14.44 ± 1.45
	t _{max} /min	66.00 ± 13.42	54.00 ± 13.42	60.00 ± 0.00
	t _{1/2} /min	243.01 ± 130.14	351.48 ± 83.11	416.00 ± 140.70
	CL/mL·min ⁻¹ ·kg ⁻¹	199.88 ± 48.45	175.36 ± 47.39	156.07 ± 31.31
V _d /L·kg ⁻¹	68.10 ± 31.38	88.79 ± 27.71	95.14 ± 38.38	

注:乌加生组、乌加法组、乌加姜组的 6'-OH-BP/BP 分别为 0.36 ± 0.08, 0.36 ± 0.06, 0.32 ± 0.08; 1-PP/BP 依次为 0.16 ± 0.05, 0.18 ± 0.06, 0.19 ± 0.06。

的基础上,采用乌头汤作为载体来深入探讨在复方中川乌与半夏的配伍关系。在乌头汤中形成川乌与半夏的配伍药对后,对乌头汤的组方会产生一定的影响,有研究认为可导致乌头汤原方镇痛作用减

弱^[15],也有研究认为可抑制有毒生物碱肠内菌群的生物转化,进而导致毒性增加^[16]。这些进一步说明川乌与半夏配伍的反性内涵可能需要综合多方面的因素来进行阐述,仅从某一角度不能全面反应二者

的配伍关系,更要考虑在中医药这个复杂体系中各种影响因素的变化情况。

[致谢] 广州中医药大学国际中医药转化医学研究所刘中秋教授等人在实验中给予的指导。

[参考文献]

[1] 陈西敬. 药物代谢动力学研究进展[M]. 北京:化学工业出版社,2008;95,107-110.

[2] 黄丽华,朱艺成. 血藤乌头汤治疗类风湿性关节炎的疗效观察及护理[J]. 医学信息,2008,21(8):1423-1425.

[3] 魏淑凤,梁丽娜,李秀峰,等. 乌头汤加味治疗类风湿性关节炎疗效研究[J]. 中国医药导刊,2012,14(1):161-164.

[4] 田庆. 乌头汤加味治疗寒湿痹症 30 例[J]. 中医临床研究,2014,6(24):55-56.

[5] 张淑英,刘杰. 加味乌头汤治疗活动性类风湿关节炎 26 例[J]. 中国中医药科技,2010,17(4):326.

[6] 刘源. 乌头半夏合用治疗类风湿关节炎 15 例的临床观察[J]. 中国中药杂志,1991,16(2):121-122.

[7] 祝瑞德. 乌头伍半夏治疗风寒湿痹症的临床运用[J]. 浙江中医杂志,2010,45(7):530.

[8] 王付. 乌头汤与半夏泻心汤合方辨治关节疼痛[J]. 中医杂志,2016,57(6):524-526.

[9] WU J J, CHENG Z X, HE S G, et al. *Pinelliae Rhizoma*, a toxic chinese herb, can significantly inhibit CYP3A activity in rats[J]. *Molecules*, 2015, 20(1):792-806.

[10] WU J J, CHENG Z X, ZHU L J, et al. Coadministration of *Pinellia ternata* can significantly reduce aconitum carmichaeliito inhibit CYP3A activity in rats[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2014, doi: 10.1155/2014/734867.

[11] WU J J, CHENG Z X, CHEN H, et al. The significant inhibition on CYP3A caused by radix *Aconiti* single herb is not observed in the Wutou decoction; the necessity of combination therapy of radix *Aconiti* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 170:251-254.

[12] 柴玉爽,王玉刚,花蕾,等. 附子乌头草乌及其炮制品的毒效比较[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2011, 13(5):847-851.

[13] 李卫国,吴成凤,桂蜀华. 配伍对乌头汤中乌头碱型生物碱的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(10):5-8.

[14] 张言,桂蜀华,谢友良,等. 乌头汤不同配伍对单酯型乌头生物碱含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(17):11-14.

[15] 刘春芳,谭淑芳,王丹华,等. 基于均匀设计法的制川乌与生半夏配伍药效研究[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(13):2169-2175.

[16] 辛杨,刘志强,刘淑莹. ESI-MS 研究反药配伍对乌头汤肠内菌代谢的影响[J]. 中药材, 2015, 38(8):1728-1731.

[责任编辑 刘德文]