

## • 制剂与质量 •

## 麻黄汤中臣、佐、使药对君药中麻黄碱的人体内过程的影响

贺 丰, 罗佳波

(南方医科大学 中药药剂重点实验室, 广东 广州 510515)

**摘要:**目的 以君药效应成分麻黄碱为指标, 采用 GC-MS 法考察不同配伍对麻黄碱药动学参数的影响规律, 探索麻黄汤方中臣、佐、使药对君药在人体内过程的影响。方法 对麻黄汤作正交设计拆成 8 个配伍组, 每组 8 名健康男性志愿者, 服药后在不同时间点抽取静脉血, 测定血浆中麻黄碱, 绘制药-时曲线; 选用 WinNonlin 4.0.1 软件求算药动学参数; 采用 SPSS10.0 软件对药动学参数进行统计分析。结果 药时曲线均符合无滞后开放式 1 房室动力学模型; 不同配伍对麻黄碱的部分药动学参数有显著影响 ( $P < 0.05$ ); 方中各药味对麻黄碱的部分药动学参数的影响有显著交互作用 ( $P < 0.05$ )。结论 臣、佐、使药对方中君药的有效成分麻黄碱的药动学参数有一定影响。

**关键词:** 麻黄汤; 配伍; 麻黄碱; 药动学

**中图分类号:** R285.6; R286.02

**文献标识码:** A

**文章编号:** 0253-2670(2005)09-1313-04

### Pharmacokinetic study of minister, adjuvant, and guide herbs in Mahuang Decoction to ephedrine in monarch herb *in vivo*

HE Feng, LUO Jia-bo

(Key Laboratory of Pharmacies Research of Chinese Materia Medica, South Medical University, Guangzhou 510515, China)

**Abstract:** **Objective** To develop a GC-MS method for the determination of ephedrine in human plasma and study the pharmacokinetic parameters of the ephedrine in different compatibility of the minister, adjuvant, and guide herbs to the monarch herb in Mahuang Decoction. **Methods** Orthogonal design was used to determine eight compatible groups from Mahuang Decoction (MHD). The healthy male volunteers were divided into groups in random, each group concluding eight men. After taking the medicine orally, venous blood would be taken out at different times. Determining ephedrine in plasma and plotting the concentration-time curve, the pharmacokinetic parameters of each compatible group were calculated by WinNonlin 4.0.1. The statistical analysis of the pharmacokinetic parameters were proceeded by SPSS 10.0. **Results** All concentration-time curves were adequately modeled by one compartment, first order absorption model, and no lag time. Some parameters of ephedrine showed significant variance ( $P < 0.05$ ) in different compatible groups. The statistic results showed interactions among herbs in MHD ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The minister, adjuvant, and guide herbs of MHD have some certain effect on the pharmacokinetic parameters of ephedrine in the monarch herb.

**Key words:** Mahuang Decoction (MHD); compatibility; ephedrine; pharmacokinetics

麻黄汤为《伤寒论》的名方, 由麻黄、桂枝、杏仁、甘草 4 味中药组成, 具发汗解表、宣肺平喘之功效, 主要用于上呼吸道感染、支气管哮喘等。生物碱类成分是麻黄药理作用的代表性成分。本实验以麻黄碱为指标, 研究不同配伍的麻黄汤给药后人体内麻黄碱的血药浓度动态变化过程, 试图从影响君药效应成分体内过程的角度研究君药和臣、佐、使药之间的关系。

#### 1 仪器与材料

HP6980—MS5973 气相色谱-质谱仪(美国安捷伦), 漩涡振荡混合器, 定量移液器(德国 Eppendorf, 200, 1 000  $\mu\text{L}$ ), LXJ-II 型离心机。

麻黄为麻黄科植物草麻黄 *Ephedra sinica* Stapf 的干燥草质茎, 桂枝为樟科植物肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl 的干燥嫩枝, 杏仁为蔷薇科植物山杏 *Prunus armeniaca* L. var. *ansu* Maxim. 的干燥成熟种子, 甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根及根茎, 饮片购自广东省药材公司

收稿日期: 2004-11-06

基金项目: 国家自然科学基金重点资助项目(30030150)

作者简介: 贺 丰(1974—), 女, 湖北监利人, 南方医科大学中医药研究所助理研究员, 硕士, 研究方向为中药药剂学。

E-mail: phifuier@hotmail.com

中药饮片厂,经本校中药鉴定学教研室鉴定。盐酸麻黄碱(中国药品生物制品检定所,批号 1241-200001),内标二苯胺、三氟醋酐等均为分析纯试剂。

受试者为健康男性,64 名,年龄(20±2)岁,体重(65±5) kg。

## 2 实验方法

2.1 拆方分组:研究对象是麻黄中的有效成分,故麻黄为各方所共有,设计 3 因素 2 水平的正交表进行试验,考虑到方中各药味之间的协同作用,先用  $L_8(2^7)$  正交表试验,见表 1 和 2。

表 1 因素水平

Table 1 Factors and levels

| 水平 | 因 素   |       |       |
|----|-------|-------|-------|
|    | 桂枝(A) | 杏仁(B) | 甘草(C) |
| 1  | 有     | 有     | 有     |
| 2  | 无     | 无     | 无     |

表 2 正交设计

Table 2 Orthogonal design

| 编号 | A | B | A×B | C | A×D B×D | 配伍组合        |
|----|---|---|-----|---|---------|-------------|
| A  | 1 | 1 |     | 1 |         | 麻黄+桂枝+杏仁+甘草 |
| B  | 1 | 1 |     | 2 |         | 麻黄          |
| C  | 1 | 2 |     | 1 |         | 麻黄+桂枝       |
| D  | 1 | 2 |     | 2 |         | 麻黄+甘草       |
| E  | 2 | 1 |     | 1 |         | 麻黄+杏仁       |
| F  | 2 | 1 |     | 2 |         | 麻黄+杏仁+甘草    |
| G  | 2 | 2 |     | 1 |         | 麻黄+桂枝+甘草    |
| H  | 2 | 2 |     | 2 |         | 麻黄+桂枝+杏仁    |

2.2 汤液的制备:全方组用量为麻黄 18 g、桂枝 12 g、杏仁 12 g、甘草 6 g,其他配伍组以此量为基准。所有配伍组均加水 480 mL(相当于麻黄汤全方的 10 倍量),浸泡 30 min,麻黄先煎 20 min,再和余药共煎 30 min,棉花滤过,去渣,即得。

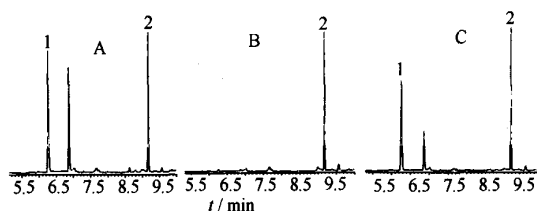
2.3 色谱-质谱条件<sup>[1~3]</sup>:色谱柱为 HP-5 弹性石英毛细管(25 m×0.25 mm),进样量 1 μL,无分流进样,进样口温度 220 ℃,载气 He,载气为恒流模式,柱流量 1.0 mL/min,柱初温 80 ℃,1 min 后以 15 ℃/min 升至 200 ℃,再以 20 ℃/min 升至 240 ℃,保持 5 min,接口 280 ℃,离子源 EI,电离电压 70 eV,倍增电压 1 635 V,选择离子检测(SIM,  $m/z$  154、265)。

2.4 样品处理及分析:取血浆 0.5 mL,加 NaCl 0.1 g,5 mol/L NaOH 200 μL,5 μg/mL 内标溶液 50 μL,萃取液[环己烷-二氯甲烷(3:1)]2.5 mL,漩涡混合器振荡 5 min,以 3 000 r/min 离心 10 min,共取上清液 2 mL,置于 Eppendorf 管中,氮气流吹干,加 TFAA 50 μL 与醋酸乙酯 100 μL 于上述 Eppendorf 管中,漩涡混合,70 ℃衍生化 30 min,氮

气流吹干,加 100 μL 醋酸乙酯溶解,进样 1.0 μL,以麻黄碱衍生物的峰面积/内标衍生物峰面积定量。2.5 人体药动学研究<sup>[4~6]</sup>:受试者随机分成 8 组,每组 8 名,所有受试者一周内未服用任何药物,未吸烟,未饮茶、咖啡、酒等刺激性饮品。实验前禁食 12 h,每人顿服汤液 350 mL,服药后 1 h 进低脂饮食,自由饮水。于服药后 10 min、20 min、40 min、1 h、1.5 h、2 h、3 h、4 h、6 h、8 h、10 h、12 h 每次采血 3 mL,置于肝素采血管内,立即离心取上清,-20 ℃冰箱冷冻保存,临测定时解冻。测定样品中麻黄碱在人体血浆中的浓度-时间数据,用 WinNonlin 4.0.1 软件拟合计算药动学参数。

## 3 结果

3.1 麻黄碱的测定:对照品加入空白血浆、空白血浆、样品分别处理后,GC-MS 法测定,色谱图见图 1。可见本法专属性强,响应值较高,血浆样本中杂质均不干扰样品的测定。



1-麻黄碱 2-内标物二苯胺

1-ephedrine 2-internal standard diphenylamine

图 1 对照品(A)、空白血浆(B)和给药血浆(C)的 GC-MS 图谱

Fig. 1 GC-MS chromatograms of reference substance (A), blank plasma (B), and plasma with drug administration (C)

3.2 药动学参数的计算与分析:不同时间的血药浓度数据,以各配伍组成麻黄碱均值绘制药动学曲线,见图 2。经由 WinNonlin 4.0.1 软件拟合,所有配伍组血药浓度-时间数据符合一房室开放模型,模型符合度均达到 0.9 以上。药动学参数见表 3。

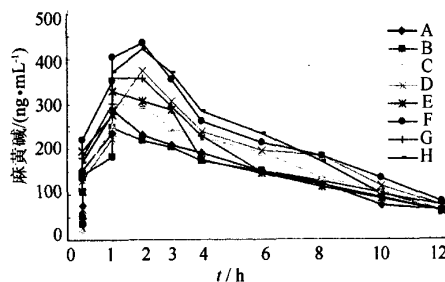


图 2 各配伍组中麻黄碱的血药浓度-时间曲线

Fig. 2 Blood concentration-time curves of ephedrine in different compatibility

表 3 各配伍组中麻黄碱的药动学参数 ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

Table 3 Pharmacokinetic parameters of ephedrine in each different compatible groups ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

| 组别 | $K_{01}/h^{-1}$ | $K_{10}/h^{-1}$ | $t_{1/2}/h$ | $t_{max}/h$ | $C_{max}/D/(ng \cdot mL^{-1} \cdot mg^{-1})$ | $V_F/(L \cdot mg^{-1})$ | $CL_F/(L \cdot h^{-1} \cdot mg^{-1})$ | $AUC/D/(h \cdot ng^{-1} \cdot mL^{-1} \cdot mg^{-1})$ | 剂量(D)/mg |
|----|-----------------|-----------------|-------------|-------------|----------------------------------------------|-------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------------------------|----------|
| A  | 1.176±0.344     | 0.173±0.042     | 4.23±1.01   | 2.025±0.380 | 3.081±0.410                                  | 23.50±4.67              | 39.53±8.65                            | 26.19±4.770                                           | 80.70    |
| B  | 1.356±0.619     | 0.144±0.064     | 5.39±1.67   | 2.047±0.570 | 1.960±0.350                                  | 39.83±8.54              | 57.68±9.63                            | 20.25±6.900                                           | 115.32   |
| C  | 0.951±0.321     | 0.177±0.041     | 4.12±1.01   | 2.261±0.370 | 2.654±0.300                                  | 25.69±4.12              | 44.34±7.48                            | 23.07±3.630                                           | 107.52   |
| D  | 0.670±0.233     | 0.203±0.042     | 3.52±0.60   | 2.683±0.480 | 2.627±0.170                                  | 22.33±4.44              | 43.79±4.65                            | 23.05±2.400                                           | 118.77   |
| E  | 1.111±0.138     | 0.210±0.044     | 3.43±0.72   | 1.884±0.200 | 2.214±0.170                                  | 30.87±3.21              | 63.94±10.01                           | 16.00±2.700                                           | 135.77   |
| F  | 1.058±0.214     | 0.185±0.045     | 3.99±1.24   | 2.036±0.170 | 2.435±0.270                                  | 28.60±3.90              | 51.82±9.57                            | 19.97±4.330                                           | 159.75   |
| G  | 1.015±0.278     | 0.232±0.048     | 3.10±0.64   | 1.931±0.210 | 2.287±0.200                                  | 28.14±3.29              | 64.68±11.86                           | 15.88±2.700                                           | 145.54   |
| H  | 0.650±0.217     | 0.255±0.056     | 2.82±0.55   | 2.462±0.340 | 2.975±0.200                                  | 18.36±4.45              | 44.70±3.98                            | 22.52±1.920                                           | 127.61   |

#### 4 讨论

4.1 臣药桂枝:统计结果显示在 0.05 水平下(后同),桂枝对麻黄碱的吸收和消除快慢没有显著影响(桂枝对参数  $K_{01}$ 、 $K_{10}$ 、 $t_{1/2}$ 、 $t_{max}$ 、CL-F 无显著性影响),但是可以促进人体对麻黄碱的吸收利用程度(提高  $C_{max}$  和 AUC 值),从而提高麻黄碱的药理效应。此外,桂枝通过减小麻黄碱的表观分布容积,阻碍麻黄碱从血液向组织内部的分布,有利于减少麻黄碱的体内蓄积,对降低麻黄碱的毒性也有一定意义。提示了臣药和君药的增效配伍关系,体现了桂枝为臣药,辅助君药。

用 SPSS10.0 对参数进行正交设计资料的方差分析后,结果见表 4。

表 4 各药味对麻黄碱药动学参数的影响

Table 4 Effect of ephedrine among single herbs on pharmacokinetic parameters

| 组合       | $K_{01}$ | $K_{10}$ | $t_{1/2}$ | $t_{max}$ | $C_{max}/D$ | $V_F$ | $CL_F$ | $AUC/D$ |
|----------|----------|----------|-----------|-----------|-------------|-------|--------|---------|
| 桂枝       | -        | -        | -         | -         | 增**         | 减**   | -      | 增*      |
| 杏仁       | 减*       | -        | -         | 增*        | 增**         | 减**   | 减**    | 增**     |
| 甘草       | 增*       | -        | -         | 减**       | -           | -     | 增*     | 减**     |
| 桂枝+杏仁    | 正交互*     | -        | -         | -         | -           | -     | -      | -       |
| 桂枝+甘草    | -        | -        | -         | -         | -           | 负交互*  | -      | -       |
| 杏仁+甘草    | 负交互**    | 负交互**    | 负交互**     | -         | -           | 负交互** | -      | 负交互**   |
| 桂枝+杏仁+甘草 | -        | -        | -         | -         | 负交互**       | 正交互*  | -      | 正交互*    |

\* $P<0.05$  \*\* $P<0.01$   $-P>0.05$

4.2 佐药杏仁:杏仁的加入对麻黄碱的大部分参数有影响:显著降低  $K_{01}$  值,显著增加  $t_{max}$  值,说明杏仁延缓麻黄碱的吸收;极显著提高  $C_{max}$ 、AUC 值,说明杏仁促进人体对麻黄碱的吸收利用程度;极显著降低表观分布容积、CL-F 值,说明杏仁有利于减少麻黄碱体内蓄积。杏仁影响麻黄碱与药效相关的参数,提示其协助君药加强治疗作用;影响主要不良反应来源物质麻黄碱的吸收速率,提示杏仁可以减轻君药峻烈之性,避免毒性出现。进一步提示杏仁在方中,不仅可能是佐助药,可能还是佐制药。

4.3 使药甘草:甘草对于麻黄碱的参数影响主要是

速率方面,加快吸收,加快消除(显著增大麻黄碱的  $K_{01}$ 、CL-F 值,极显著降低麻黄碱的  $t_{max}$  值)。甘草降低麻黄碱 AUC 值,提示其防止麻黄碱进入体内的药量过度。在甘草与桂枝、杏仁的配伍中,基本上都显示为相畏倾向,使、臣、佐药对君药的影响保持一定水平而不过度。这些都提示了使药甘草在方中调和诸药的作用。

4.4 各药相互作用:从统计分析中的交互作用看,桂枝与杏仁协同降低麻黄碱  $K_{01}$  值,适当延缓麻黄碱的吸收,有利于避免过激的药效和不良反应。杏仁、甘草配伍之后,统计结果显示两药负向交互作用显著。提示杏仁和甘草在方中可能以相畏的原则进行配伍。桂枝、杏仁、甘草 3 药配伍能显著提高麻黄碱在人体内的  $C_{max}$ 、AUC 值,显著减少麻黄碱表观分布容积值。提示通过配伍,臣、佐、使药共同提高麻黄碱的吸收利用程度,减少蓄积,避免不良效应。可见方中各配伍药味互相协同或者制约,共同调节麻黄碱体内过程。

本研究采用效应成分药动学方法,从臣、佐、使药对君药中麻黄碱在人体内药动学参数的影响这一角度,研究方剂中臣、佐、使药在方中的地位和作用。结果显示,麻黄汤中臣、佐、使药对君药中麻黄碱的药动学过程有显著影响,并与君药的疗效和不良反应密切相关,为结合其他角度进一步阐明君、臣、佐、使各药味在方剂中的地位和作用提供了一定的实验依据。

致谢:南方医科大学统计学教研室、南方医院临床药理基地对本实验的帮助。

#### References:

- [1] Spyridaki M E, Tsitsimpikou C J, Siskos P A, et al. Determination of ephedrine in urine by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 2001, 758: 311-314.
- [2] Delbeke V. Simultaneous quantitation of ephedrine in urine by gas chromatography-nitrogen-phosphorus detection for doping control purposes [J]. *Chromatogr B Biomed Sci Appl*, 2001, 760 (2): 255-261.
- [3] Li J L, Chen F L, Liu C M, et al. Determination of ephedrine

- and pseudoephedrine in MAHUANGTANG by GC-MS and effect of compatible medicinal herbs on concentration of components in decoction [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33 (4): 307-309.
- [4] Fang W J, Chen J, Zhang D L, *et al.* Pharmacokinetics and relative bioavailability of pseudoephedrine [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 1999, 34 (7): 472-474.
- [5] Zhong M K, Shi X J, Zhang J H, *et al.* Pharmacokinetics of pseudoephedrine sustained-released tablet in health volunteers [J]. *Chin J Hosp Pharm* (中国医院药学杂志), 2001, 21 (7): 395-397.
- [6] Zhao X L. *Base and Application of Clinical Pharmacokinetics* (临床药代动力学基础与应用) [M]. Zhengzhou: Zhengzhou University Press, 2002.

## HPLC 法测定盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱中杂质

刘祥东<sup>1,2</sup>, 梁琼麟<sup>1</sup>, 罗国安<sup>1\*</sup>, 王义明<sup>1</sup>, 刘清飞<sup>1</sup>

(1. 清华大学 化学系, 北京 100084; 2. 江西中医学院, 江西 南昌 330006)

**摘要:**目的 建立盐酸麻黄碱(E)和盐酸伪麻黄碱(PE)中杂质的高效液相色谱 HPLC 测定方法。方法 用 RP C<sub>18</sub> 色谱柱, 以 20 mmol/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 水溶液-甲醇(96:4)为流动相, 检测波长为 210 nm, 分析时间为 20 min。结果 6 种麻黄生物碱均达到基线分离; 混合对照品连续进样 6 次, 色谱峰面积 RSD 均小于 1.0%; 对照品质量浓度在选定范围内呈现良好的线性关系( $R^2 > 0.999$ ); 各成分最低检出限分别为: 去甲基麻黄碱(NE)为 0.05  $\mu\text{g/mL}$ , 去甲基伪麻黄碱(NPE)为 0.04  $\mu\text{g/mL}$ , E 和 PE 为 0.1  $\mu\text{g/mL}$ , 甲基麻黄碱(ME)和甲基伪麻黄碱(MPE)为 0.2  $\mu\text{g/mL}$ ; 各成分的加样回收率均大于 97.1%; 6 个待测样品均被检测出不同程度的杂质。结论 本方法分离度好、精密度高、专属性强、灵敏度高, 可用于麻黄生物碱类药物中杂质成分的定性和定量测定。

**关键词:** 盐酸麻黄碱; 盐酸伪麻黄碱; 高效液相色谱; 杂质

中图分类号: R286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2005)09-1316-04

### Determination of impurity in ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride by HPLC

LIU Xiang-dong<sup>1,2</sup>, LIANG Qiong-lin<sup>1</sup>, LUO Guo-an<sup>1\*</sup>, WANG Yi-ming<sup>1</sup>, LIU Qing-fei<sup>1</sup>

(1. Department of Chemistry, Tsinghua University, Beijing 100084, China; 2. Jiangxi College of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006, China)

**Abstract:** **Objective** To develop an HPLC method for determination of impurities in ephedrine hydrochloride (E) and pseudoephedrine hydrochloride (PE). **Methods** All of ephedrine alkaloids reference substances and samples were separated with a 20 mmol/L aqueous KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> containing 4% methanol buffer under isocratic elution by using a C<sub>18</sub> reversed-phase column within 20 min, and the detection wavelength was 210 nm. **Results** Six ephedrine alkaloids reference substances were base-line separated and were linear in concentration of selection ( $R^2 > 0.999$ ). The relative standard deviation (RSD) of chromatogram area was less than 1.0% for all of them after six successive injections. The detection limit was 0.05  $\mu\text{g/mL}$  for norephedrine (NE), 0.04  $\mu\text{g/mL}$  for norpseudoephedrine (NPE), 0.1  $\mu\text{g/mL}$  for E and PE, and 0.2  $\mu\text{g/mL}$  for mephedrine (ME) and mepseudoephedrine (MPE), respectively ( $S/N \geq 3$ ). The recovery rate was more than 97.1% for six ephedrine alkaloids. Under this method system, all of the above-mentioned six samples were tested and found to contain some of the impurity at different levels. **Conclusion** This developed method, which is very simple, perfect precision, high sensitivity, and selectivity, can be used for the qualitative and quantitative determination of impurities of ephedrine alkaloid-type samples.

**Key words:** ephedrine hydrochloride (E); pseudoephedrine hydrochloride (PE); HPLC; impurity

盐酸麻黄碱(ephedrine hydrochloride, E)和盐酸伪麻黄碱(pseudoephedrine hydrochloride, PE)

收稿日期: 2004-12-24

基金项目: 科技部重大专项基金资助项目(2002BA906A29-3, 2002DEA20021-3, 2001BA701A36-18)

作者简介: 刘祥东(1980—), 男, 江西南康人, 江西中医学院中药化学与成分分析专业在读硕士。

\* 通讯作者 罗国安