

麻黄汤中臣佐使药对君药中伪麻黄碱的人体药代学的影响

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:以君药效应成分伪麻黄碱(pseudoephedrine, PE)为指标,用 GC-MS 法考察不同配伍对 PE 药代学参数的影响规律,探索麻黄汤方中臣佐使药对君药人体内过程的影响。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,测定血清中 PE 的含量,绘制药-时曲线;选用药代软件 WinNonlin 4.0.1 求算药代学参数;采用 SPSS 10.0 软件对药代参数进行统计分析。结果:所有药时曲线均符合无滞后开放式一房室动力学模型;不同配伍对 PE 的部分药代学参数有显著影响($P < 0.05$);方中各药味对 PE 的部分药代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有效成分伪麻黄碱的药代学参数有一定影响。

[关键词] 麻黄汤;药代学;伪麻黄碱;配伍;组方原理

[中图分类号] R 289; R 969.1 [文献标识码] A [文章编号] 1001-5302(2005)18-1454-04

麻黄汤为张仲景《伤寒论》的名方,由麻黄、桂枝、杏仁、甘草 4 味中药组成,组方严谨,君臣佐使具备,为历代中医书籍中用以说明方剂配伍组方理论的典范。药理学研究表明,君药麻黄中生物碱类成分与麻黄药理作用一致。本研究旨在以伪麻黄碱(pseudoephedrine, PE)为指标,着重研究不同配伍的麻黄汤给药后人体内 PE 的血药浓度动态变化过程,试图从如何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,从而为阐明君臣佐使药在方剂中的作用与地位,并为继续深入研究组方原理打下基础。

1 材料

1.1 仪器 气相色谱-质谱仪(美国安捷伦, HP6980-MS5973);HP-5 弹性石英毛细管(0.25 mm×30 m);漩涡振荡混合器;定量移液器(德国 eppendorf 200 μ L, 1 000 μ L);离心机(LXJ-II 型)。

1.2 原料与试剂 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 ur-*

ralensis Fisch 的干燥根及根茎。饮片购自广东省药材公司中药饮片厂,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);盐酸伪麻黄碱(国家麻醉品实验室,批号 1237-9601);二苯胺(分析纯,常州新华活性材料研究所);三氟醋酸酐(trifluoroacetic anhydride TFAA;批号 A016092401),美国 ACROS 公司;氯化钠,盐酸,环己烷,二氯甲烷,醋酸乙酯,均为分析纯,汕头市光华化学试剂厂。

1.3 健康受试者 健康男性 64 名,年龄(20±2)岁,体重(65±5) kg。

2 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,设计三因素、二水平的正交表进行试验,见表 1、表 2。

表 1 拆方分组正交设计因素水平表

水平	桂枝	杏仁	甘草
1	有(+)	有(+)	有(+)
2	无(-)	无(-)	无(-)

2.2 药物制备 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,棉花过滤去渣。

2.3 色谱-质谱条件^[1-3] 色谱柱:DB-17 弹性石英毛

[收稿日期] 2004-12-10

[基金项目] 国家自然科学基金重点资助项目(30030150)

[通讯作者] * 罗佳波, Tel/Fax: (020) 61648266

表 2 拆方分组正交设计表

配伍	1	2	3	4	5	6	7	配伍组合
编号	桂枝	杏仁	1 × 2	甘草	1 × 4	2 × 4		
A	+	+		+				麻黄 + 桂枝 + 杏仁 + 甘草
H	+	+		-				麻黄 + 桂枝 + 杏仁
G	+	-		+				麻黄 + 桂枝 + 甘草
C	+	-		-				麻黄 + 桂枝
F	-	+		+				麻黄 + 杏仁 + 甘草
D	-	+		-				麻黄 + 杏仁
E	-	-		+				麻黄 + 甘草
B	-	-		-				麻黄

细管(0.25 mm×30 m),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⁻¹。柱初温 80 ℃,1 min 后以 15 ℃·min⁻¹ 升至 200 ℃,再以 20 ℃·min⁻¹ 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⁻¹, NaOH 200 μL, 5 μg·mL⁻¹ 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⁻¹ 离心 10 min,共取上

清液 2 mL 置 Eppendorf 管中,氮气流吹干,加 TFAA 50 μL 与醋酸乙酯 100 μL 于 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,用麻黄碱衍生物的峰面积与内标衍生物峰面积之比值进行定量分析。

2.5 人体药代学研究^[4-6] 体检合格自愿受试者(健康男性)64 名,随机分成 8 组,每组 8 名。所有自愿受试者,1 周内未服用任何药物,未进烟,饮茶、咖啡、酒等刺激性食品。实验前禁食 12 h,每人顿服药液 350 mL,服药后 1 h 进低脂饮食,自由饮水。于服药后 10, 20, 40 min, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 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浓度-时间数据。

3 结果

3.1 伪麻黄碱定量测定方法 对照品加入空白血浆,空白血浆、样品分别按 2.4 项下处理后,按 2.3 项下方法进行测定,色谱图分别见图 1 中 A、B、C。由色谱图可见本法专属性强,响应值较高,血浆样本中杂质均不干扰样品的测定。

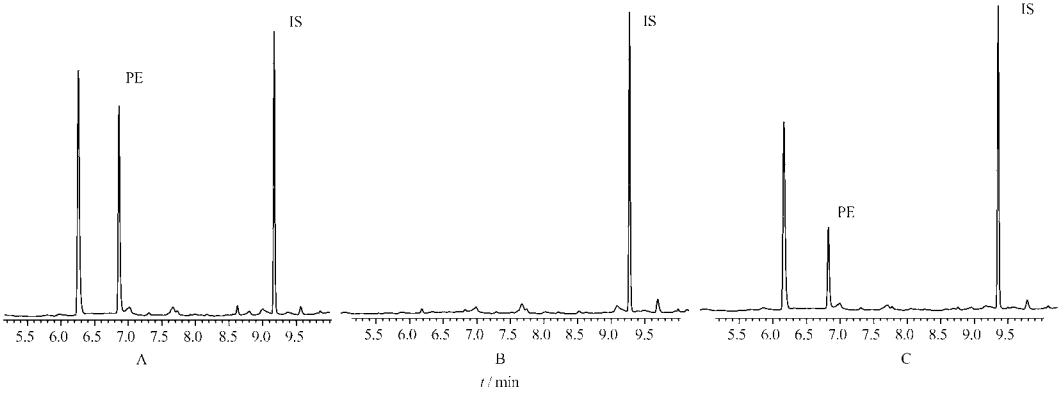


图 1 人血浆中伪麻黄碱 GC-MS 图谱

A. 对照品; B. 空白血浆; C. 给药后血浆; PE. 伪麻黄碱; IS. 内标

3.2 药代参数的计算与分析 不同时间的血清中药物浓度数据由 WinNonlin 4.0.1 软件处理。经拟合,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。计算吸收速率常数(*K*₀₁)、消除速率常数(*K*₁₀)、半衰期(*t*_{1/2})、达峰时间(*t*_{max})、达峰浓度与给药量比值(*C*_{max}/ *D*)、曲线下面积与给药量比值(*AUC*/ *D*)、表观分布容积(*V*)、清除率(*CL*)等药代参数(结果见表 3)。用 SPSS 10.0 软件对所得参数进行正交设计资料的方差分析,统计结果见表 4。表 4 中“桂枝”表示有桂枝的

配伍组与缺桂枝的配伍组进行比较,“桂枝-杏仁”表示正交设计统计分析中两个因素的交互情况。

4 讨论

4.1 臣药桂枝对君药伪麻黄碱药代学影响 结果显示,桂枝的加入提高伪麻黄碱的 *K*₀₁, *C*_{max}, *AUC*, 降低 *V*, *CL*, 对其他参数没有显著影响。说明桂枝可加快伪麻黄碱的吸收,促进人体对伪麻黄碱的吸收利用程度,降低清除率以保证体内有足够药量发挥药效,使伪麻黄碱主要分布于体液,有利于减少体内蓄积,防止降低毒效。提示了臣药和君药的增效配

表 3 各配伍组中伪麻黄碱的人体药代学参数($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	K_{01} / h	K_{10} / h	$t_{1/2}$ / h	t_{max} / h	C_{max}/D / ng· mL ⁻¹ · mg ⁻¹	V / L· mg ⁻¹	CL / L· h ⁻¹ · mg ⁻¹	AUC/ D / ng ⁻¹ · h ⁻¹ · mL ⁻¹
A	1.074 ± 0.218	0.165 ± 0.031	4.335 ± 0.841	2.109 ± 0.297	2.626 ± 0.567	28.30 ± 7.08	46.65 ± 14.82	23.07 ± 6.03
B	0.803 ± 0.257	0.185 ± 0.019	3.872 ± 0.417	2.452 ± 0.375	1.590 ± 0.368	42.63 ± 14.30	78.06 ± 23.48	13.74 ± 3.64
C	0.775 ± 0.362	0.207 ± 0.045	3.469 ± 0.640	2.489 ± 0.519	2.102 ± 0.267	28.64 ± 5.16	57.48 ± 4.50	17.49 ± 1.30
D	0.766 ± 0.184	0.228 ± 0.068	3.256 ± 0.862	2.323 ± 0.326	1.930 ± 0.337	32.02 ± 7.99	68.43 ± 4.77	14.68 ± 1.06
E	0.727 ± 0.183	0.363 ± 0.108	2.102 ± 0.267	1.930 ± 0.337	2.563 ± 0.384	19.50 ± 2.40	69.18 ± 16.09	15.18 ± 3.69
F	0.960 ± 0.115	0.262 ± 0.042	2.704 ± 0.449	1.873 ± 0.101	2.619 ± 0.245	23.61 ± 2.76	61.39 ± 8.34	16.60 ± 2.67
G	1.018 ± 0.206	0.254 ± 0.035	2.775 ± 0.424	1.841 ± 0.162	2.552 ± 0.388	25.04 ± 4.07	63.03 ± 10.35	16.25 ± 2.77
H	0.724 ± 0.100	0.287 ± 0.052	2.479 ± 0.438	2.138 ± 0.172	3.246 ± 0.324	16.91 ± 2.11	47.88 ± 5.48	21.13 ± 2.50

表 4 各药味对伪麻黄碱药代学参数影响

	K_{01}	K_{10}	$t_{1/2}$	t_{max}	C_{max}/D	V	CL	AUC/ D
桂枝	增 ¹⁾	-	-	-	增 ²⁾	减 ²⁾	减 ²⁾	增 ²⁾
杏仁	-	-	-	-	增 ²⁾	减 ²⁾	减 ²⁾	增 ²⁾
甘草	增 ²⁾	增 ²⁾	减 ¹⁾	减 ²⁾	增 ²⁾	减 ²⁾	-	-
桂枝-杏仁	-	-	-	-	正交互 ²⁾	-	-	正交互 ²⁾
桂枝-甘草	正交互 ²⁾	负交互 ²⁾	负交互 ²⁾	-	负交互 ²⁾	负交互 ²⁾	-	-
杏仁-甘草	-	负交互 ²⁾	负交互 ²⁾	负交互 ¹⁾	负交互 ²⁾	负交互 ²⁾	-	-
桂枝-杏仁-甘草	-	-	负交互 ²⁾	负交互 ¹⁾	负交互 ¹⁾	-	-	-

注:与伪麻黄碱比¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;“-”示无显著差异

伍关系,体现了桂枝为臣,辅助君药加强药效。

4.2 佐药杏仁对君药伪麻黄碱药代学影响 杏仁的加入提高伪麻黄碱 C_{max} , AUC 值,降低 V, CL 值,对其他参数未见显著影响。说明杏仁促进人体对伪麻黄碱的吸收利用,保证体内维持一定药量,减少体内蓄积;而对伪麻黄碱的吸收消除速度没有影响。佐药杏仁影响伪麻黄碱与药效相关的参数,提示其协助君药加强治疗作用及其在方中的佐药地位。

4.3 使药甘草对君药伪麻黄碱药代学影响 甘草的加入能增大伪麻黄碱的 K_{01} , K_{10} , C_{max} 值,降低伪麻黄碱的 $t_{1/2}$, t_{max} , V 值,对 AUC, CL 值没有显著影响。可见甘草对伪麻黄碱的影响主要是速度方面,加快伪麻黄碱的吸收和消除,降低 V 有利于减小伪麻黄碱体内蓄积。

4.4 交互作用对伪麻黄碱药代学的影响 从统计分析中的交互作用看,方中各配伍药味互相协同或者制约,共同调节伪麻黄碱体内过程:桂枝和杏仁协同提高伪麻黄碱 C_{max} , AUC, 共同促进人体对其的吸收利用;桂枝和甘草协同提高 K_{01} 。伪麻黄碱比麻黄碱起效慢,副作用小,加速吸收可加快药理效应出现,适用于治疗急症;桂枝和杏仁拮抗甘草提高 K_{10} , 降低 $t_{1/2}$ 的作用;甘草对伪麻黄碱的消除快慢

有极显著影响,桂枝、杏仁拮抗甘草的作用,防止伪麻黄碱消除太快以至于药效过快下降,延长效应。

甘草拮抗桂枝、杏仁提高 C_{max} 的作用,拮抗桂枝、杏仁降低 V 的作用。桂枝、杏仁、甘草都可以提高伪麻黄碱的 C_{max} , 但是甘草配伍桂枝或杏仁之后,都表现 C_{max} 上升幅度减小;都有降低 V 作用的桂枝、杏仁、甘草,进行桂枝甘草、杏仁甘草的配伍之后,表现为 V 下降幅度减小。可见甘草本身具有正相作用,又避免合用之后作用过度而引发不良反应,提示在方中作为使药的甘草可能具有双向调节作用。

本研究首次用效应成分药代学方法,从臣佐使药对君药中伪麻黄碱人体内药代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 and 作用。研究结果显示麻黄汤中臣佐使药对君药中麻黄碱的药代学过程有显著影响,并与君药的疗效和不良反应密切相关。提示了臣佐使药在方中的地位 and 作用,总体与传统中医药配伍组方原理接近,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协助完成实验。

[参考文献]

- [1] Maria Helen E S, Christina J T, Panayotis A S, *et al*. Determination of ephedrine in urine by gas chromatography-mass spectrometry. *Chromatography B*, 2001, 758:311.
- [2] Van Eenoo, Delbeke, Roels, *et al*. Simultaneous quantitation of ephedrine in urine by gas chromatography-nitrogen-phosphorus detection for doping control purposes. *J Chromatogr B*, 2001, 760(2): 255.
- [3] 李吉来, 陈飞龙, 刘传明, 等. 麻黄汤中麻黄碱与伪麻黄碱的GC-MS法测定及配伍因素对汤剂中该成分含量的影响. *中草药*, 2002, 33(4): 307.
- [4] 方维军, 陈坚, 张灯玲, 等. 两种糖浆剂中盐酸伪麻黄碱的药代学和相对生物利用度. *中国药学杂志*, 1999, 34(7): 472.
- [5] 钟明康, 施孝金, 张静华, 等. 盐酸伪麻黄碱缓释片在健康志愿者中的药动学. *中国医院药学杂志*, 2001, 21(7): 395.
- [6] 赵香兰. 临床药代学基础与应用. 郑州: 郑州大学出版社, 2002.

Effect on pharmacokinetics of pseudo-ephedrine in human plasma among herbs in Mahuang decoction

HE Feng, LUO Jia-bo

(Key Laboratory of Pharmacies Research of Traditional Chinese Medicine,
South Medical University, Guangzhou 510515, China)

[Abstract] **Objective:** To develop a GC-MS method for the determination of pseudo-ephedrine in human plasma and study the mutative rules of the pharmacokinetic parameters of the pseudo-ephedrine in different compositions. **Method:** Orthogonal design was used to determine 8 compositions from Mahuang decoction (MHD). The healthy volunteers were divided into groups in random, each group including 8 men. After taking the medicine orally, vena blood would be taken out at different time. Determining pseudo-ephedrine in plasma and plotting the concentration-time curve, the pharmacokinetic parameters of each composition were calculated by WinNonlin 4.0.1. The statistical analysis of the pharmacokinetic parameters was proceeded by SPSS 10.0. **Result:** All concentration-time curves were adequately modeled by one compartment, first order absorption model, no lag time. Some parameters of pseudo-ephedrine showed significant variance ($P < 0.05$) in different compositions. The statistic results showed interactions between drugs in MHD ($P < 0.05$). **Conclusion:** The other herbs erds of MHD have some certain extent effects to the pharmacokinetic parameters of pseudo-ephedrine in the dominant drug.

[Key words] Mahuang decoction; pharmacokinetics; pseudo-ephedrine; compatibility; composition principle

[责任编辑 古云侠]