

# 大鼠体内麻黄汤中总生物碱的药代动力学考察 及其与盐酸麻黄碱含量变化的比较

江峰<sup>1</sup>, 杨真真<sup>2</sup>, 吴华嵩<sup>3</sup>, 李孝栋<sup>2\*</sup>

(1. 厦门大学附属中山医院, 福建 厦门 361004; 2. 福建中医药大学药学院, 福州 350108;  
3. 福建省中医药研究院, 福州 350003)

**[摘要]** 目的: 考察麻黄汤中总生物碱在大鼠体内的药代动力学过程, 比较其与盐酸麻黄碱的体内含量变化。方法: 大鼠口服灌入麻黄汤, 于不同时间点眼眶取血, 采用酸性染料比色法测定血浆样品中总生物碱含量, 通过3P97软件进行房室模型拟合并计算药代动力学参数, 利用HPLC测定血浆样品中盐酸麻黄碱含量, 比较二者在大鼠体内的含量变化。结果: 总生物碱在4~144 mg·L<sup>-1</sup>与吸光度呈良好线性关系。总生物碱在大鼠体内的代谢过程符合一室模型,  $t_{1/2} = 339.88$  min,  $t_{max} = 265.86$  min,  $AUC = 326\ 631.38$  min·mg·L<sup>-1</sup>; 盐酸麻黄碱10 min入血, 但在第6 h基本未能测出。结论: 酸性染料比色法可用于麻黄汤中总生物碱的药代动力学分析, 方法准确可靠。盐酸麻黄碱入血、消除均较快。

**[关键词]** 麻黄汤; 总生物碱; 酸性染料比色法; 药代动力学; 盐酸麻黄碱

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)11-0102-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014110102

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20140324.1611.026.html>

**[网络出版时间]** 2014-03-24 16:11

**[收稿日期]** 20130918(007)

**[基金项目]** 福建省科技厅项目(2010Y2004)

**[第一作者]** 江峰, 副主任药师, 从事医院药学研究, Tel:13003942577, E-mail: xmwsjf@163.com

**[通讯作者]** \* 李孝栋, 博士, 副教授, 从事中药制剂与质量控制研究, Tel:0591-22861135, E-mail: lxdtem@163.com

的质量均大于烧伤愈合软膏, 可能与剂型、辅料等有关。

## [参考文献]

- [1] 袁汀, 周瑜妹. 外用中药治疗烧烫伤的研究进展[J]. 光明中医, 2010, 25(11): 2151.
- [2] 王静, 袁子明, 李可强, 等. 黄连提取物中盐酸小檗碱在大鼠体内的药动学研究[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(19): 2284.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 285.
- [4] 王雪妮, 张德芹, 黄云英, 等. 大鼠烫伤模型制备的实验研究[J]. 天津中医药大学学报, 2011, 30(4): 218.
- [5] 杨莉, 田吉来, 柯学. 纳米级与微米级珍珠粉对大鼠深Ⅱ度烫伤的药效学评价[J]. 临床医药实践, 2012, 21(4): 281.
- [6] Zhang Y, Huo M R, Zhou J P, et al. PKSolver: An add-in program for pharmacokinetic and pharmacodynamic data

analysis in Microsoft Excel[J]. Comput Meth Prog Bio, 2010, 99(3): 306.

- [7] 白耀武, 杨俊红, 王树华. 非房室模型统计矩方法测定妊娠晚期孕妇瑞芬太尼的药代动力学特点[J]. 河北医药, 2009, 31(18): 2382.
- [8] 陈潮, 许羚, 郑青山. 药代动力学非房室模型终末段半衰期的算法研究[J]. 定量药理学, 2013, 18(8): 891.
- [9] 肖学风, 乔晓莉, 高岚, 等. 黄连解毒汤中三种成分在大鼠体内的药代动力学研究[J]. 中国医药导报, 2008, 5(3): 13.
- [10] 李艺, 游雪甫, 蒋建东. 小檗碱的药动学研究进展[J]. 中国新药杂志, 2008, 17(9): 733.
- [11] 王彦礼, 刘淑芳, 王岚, 等. 黄连巴布膏中盐酸巴马汀和小檗碱的药动学研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(5): 129.

[责任编辑 刘德文]

# Investigation of Pharmacokinetics of Total Alkaloid from Ephedra Decoction in Rats and Its Comparison with Content Change of Ephedrine Hydrochloride

JIANG Feng<sup>1</sup>, YANG Zhen-zhen<sup>2</sup>, WU Hua-song<sup>3</sup>, LI Xiao-dong<sup>2\*</sup>

(1. Zhongshan Hospital, Xiamen University, Xiamen 361004, China;

2. College of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350108, China;

3. Fujian Institute of Chinese Medicine, Fuzhou 350003, China)

**[ Abstract ] Objective:** To investigate pharmacokinetics of total alkaloids from ephedra decoction in rats and compare content change between it and ephedrine hydrochloride. **Method:** Rats were oral administered with ephedra decoction and their orbital blood samples were taken at different time points. The content of total alkaloids in plasma samples was determined by acid dye colorimetry, pharmacokinetical parameters and compartment models of each composition were calculated or fitted by 3P97 software, the content of ephedrine hydrochloride in plasma samples was determined by HPLC and then compared with results of total alkaloids. **Result:** Absorbance of total alkaloids calculated by ephedrine hydrochloride showed a good linear relationship with its concentration in a range of 4-144 mg·L<sup>-1</sup>. *In vivo* metabolic process of total alkaloids in rats was complied with the one-compartment model with  $t_{1/2} = 339.88$  min,  $t_{max} = 265.86$  min and  $AUC = 326\ 631.38$  min·mg·L<sup>-1</sup>; however, the content of ephedrine hydrochloride in plasma could be determined in 10 min and not be determined after 6 h by HPLC, which indicated it was completely excreted soon. **Conclusion:** Acid dye colorimetry was accurate and reliable for determination of total alkaloids from ephedra decoction in rat plasma. Ephedrine hydrochloride got into blood and eliminated all fast.

**[ Key words ]** ephedra decoction; total alkaloids; acid dye colorimetry; pharmacokinetics; ephedrine hydrochloride

麻黄汤源自《伤寒论》,由麻黄、桂枝、杏仁、甘草组成,具有发汗解表、宣肺平喘之功效,主要用于治疗呼吸道感染、支气管哮喘等疾患<sup>[1-2]</sup>。麻黄为方中君药,主要药效成分为麻黄碱、伪麻黄碱等生物碱类。相关文献主要报道了单体麻黄碱体内外的定量方法及人或动物血液、尿液中的药代动力学过程,而对中药复方中麻黄碱和伪麻黄碱的药理学报道较少<sup>[3-8]</sup>。本实验分别采用酸性染料比色法和 HPLC 测定大鼠口服麻黄汤后不同时间段血浆中麻黄总生物碱与盐酸麻黄碱的含量,拟通过比较二者的体内药代动力学行为,提出适用于麻黄汤总生物碱药理学研究的方法,为多成分中药有效部位的体内分析提供参考。

## 1 材料

VXH-3 微型旋涡混合器(上海跃进医疗器械厂),TDL80-2B 型台式离心机(上海安亭科学仪器厂),TopPette Pipettor 型移液器(10~200,100~1 000 μL,上海恒奇仪器仪表有限公司),FA2004N 型电子天平(上海精密科学仪器有限公司),TU-

1901 型紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司),LC-20A 型高效液相色谱仪(日本岛津公司)。

麻黄、桂枝、炙甘草、杏仁饮片均购自安徽协和成药业饮片有限公司,由福建中医药大学中药鉴定教研室黄泽豪博士鉴定为麻黄科植物草麻黄 *Ephedra sinica* Stapf. 的草质茎,樟科植物肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl 的干燥嫩枝,豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根茎;盐酸麻黄碱对照品(中国食品药品检定研究院,批号 171242-200404),甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

清洁级健康雄性 SD 大鼠,体重 180~200 g,由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供,许可证号 SCXK(沪) 2007-0005。

## 2 方法与结果

**2.1 供试品溶液的制备** 按麻黄汤的经典处方和工艺,称取麻黄 108 g,桂枝 72 g,杏仁 72 g,甘草 21 g,加 10 倍量水,麻黄先煎 20 min,再和余药共煎 30 min,纱布粗滤去渣,减压浓缩至 0.504 g·mL<sup>-1</sup>,

即得。

**2.2 对照品溶液的制备** 精密称取盐酸麻黄碱对照品 5 mg, 置于 25 mL 量瓶中, 加水溶解并定容至刻度, 作为储备液。分别精密吸取储备液 0.2, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0, 2.4, 7.2 mL 置于 10 mL 量瓶内, 加水稀释并定容至刻度, 得系列对照品溶液。

**2.3 血浆样品的采集** 取 SD 大鼠 72 只, 随机等分成 12 组, 通过人体剂量换算, 按  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  剂量分别灌胃给药, 给药前禁食 14 h, 不禁水, 分别于给药后 10, 20, 40, 60, 90, 120, 180, 240, 360, 480, 600  $\text{min}^{[9]}$  大鼠眼眶取血 (每个时间点 6 只大鼠), 放入乙二胺四乙酸 (EDTA) 中, 离心 10  $\text{min}$  ( $3\ 800 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ , 下同), 取上层血浆部分, 冷冻保存, 备用。

**2.4 血浆中总生物碱的含量测定**

**2.4.1 溴甲酚绿酸性染料的配制** 精密称取溴甲酚绿 0.1501 g, 加 pH 6.0 乙酸-乙酸铵缓冲液 300 mL, 摇匀, 溶解, 得 0.05% 溴甲酚绿缓冲液。

**2.4.2 血浆样品的处理** 取血浆 0.5 mL, 加 6% 高氯酸 1 mL, 漩涡混合器振荡 2  $\text{min}$ , 离心 10  $\text{min}$ , 吸取上清液置 15 mL 离心管, 加  $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaOH 溶液 0.8 mL, 涡旋 1  $\text{min}$ , 加入三氯甲烷 6 mL, 密塞, 涡旋 5  $\text{min}$ , 离心 2  $\text{min}$ , 精密吸取三氯甲烷层, 加入 pH 6.0 溴甲酚绿缓冲液 3 mL, 漩涡混合器振荡 5  $\text{min}$ , 静置 10  $\text{min}$ , 取三氯甲烷层于 411 nm 处测定吸光度 (A), 同时取空白血浆 0.5 mL, 同法操作, 所得三氯甲烷层作为参比溶液。

**2.4.3 线性关系考察** 精密称取空白血浆 0.3 mL, 共 7 份, 加 6% 高氯酸 0.6 mL, 漩涡混合器振荡 2  $\text{min}$ , 离心 10  $\text{min}$ , 吸取上清液置 15 mL 离心管中, 依次加入 4, 16, 24, 32, 40, 48, 144  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  对照品溶液 5 mL, 加  $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaOH 溶液 0.4 mL, 涡旋 1  $\text{min}$ , 加入三氯甲烷 5 mL, 密塞, 涡旋 5  $\text{min}$ , 离心 2  $\text{min}$ , 分取三氯甲烷层, 加入 pH 6.0 溴甲酚绿缓冲液 3 mL, 涡旋 5  $\text{min}$ , 静置 10  $\text{min}$ , 取三氯甲烷层于 411 nm 处测定 A; 另取空白血浆 0.3 mL 同法处理作为参比溶液, 以 A 为纵坐标, 质量浓度 (C) 为横坐标, 得回归方程  $A = 0.0085C - 0.0347 (r = 0.9974)$ , 以盐酸麻黄碱计, 线性范围  $4 \sim 144 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

**2.4.4 精密度试验** 精密吸取大鼠空白血浆 0.5 mL, 加入  $40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  对照品溶液 5 mL, 按 2.4.2 项下方法处理, 于 411 nm 处重复测定 5 次, 结果 A 的 RSD 0.32%, 表明仪器精密度良好。

**2.4.5 回收率试验** 精密吸取 9 份大鼠空白血浆, 每份 0.5 mL, 加入不同对照品溶液, 配制成高、中、

低 3 个质量浓度 ( $24, 40, 48 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 的血浆样品, 按 2.4.2 项下方法处理, 于 411 nm 处测定 A ( $n = 5$ ), 计算方法回收率分别为  $(108.68 \pm 1.06)\%$ ,  $(111.62 \pm 0.32)\%$ ,  $(105.99 \pm 0.84)\%$ 。

**2.4.6 药-时曲线绘制** 取各时间点的血浆, 按 2.4.2 项下方法处理, 计算总生物碱在大鼠体内的血药浓度, 绘制药-时曲线, 见图 1。数据采用 3P97 软件进行拟合, 结果显示药-时过程符合一室模型, 药动学参数见表 1。

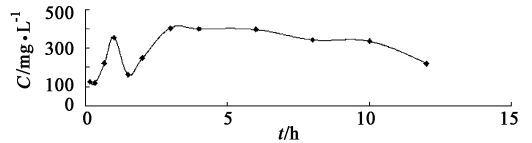


图 1 大鼠口服麻黄汤后麻黄总生物碱的平均药-时曲线  
表 1 大鼠口服麻黄汤后麻黄总生物碱的药动学参数

参数	单位	总生物碱
$t_{1/2}$	min	339.88
$t_{max}$	min	265.86
$C_{max}$	$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	387.33
AUC	$\text{min} \cdot \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	326 631.38
V/F	L	2.24
CL/F	$\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$	0.005

**2.5 血浆中盐酸麻黄碱的含量变化**

**2.5.1 色谱条件<sup>[10-11]</sup>** Diamonsil  $C_{18}$  色谱柱 (4.6 mm  $\times$  200 mm, 5  $\mu\text{m}$ ), 流动相甲醇-0.01  $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  磷酸二氢钾 (10:90), 检测波长 210 nm, 进样量 20  $\mu\text{L}$ , 流速  $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ , 柱温 30  $^{\circ}\text{C}$ 。

**2.5.2 血浆样品的处理** 取血浆 0.2 mL, 加入甲醇 0.2 mL, 漩涡混合器振荡 2  $\text{min}$ , 于 17 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10  $\text{min}$ , 吸取上清液, 按 2.5.1 项下色谱条件进样分析, 结果显示盐酸麻黄碱对照品在 12.88  $\text{min}$  出峰, 空白血浆无干扰, 分离度良好。采用比较法计算盐酸麻黄碱含量, 发现入血较快, 10  $\text{min}$  已存在, 且总体呈现随时间延长含量逐渐减小的趋势, 6 h 后基本未能测到, 见图 2, 3。

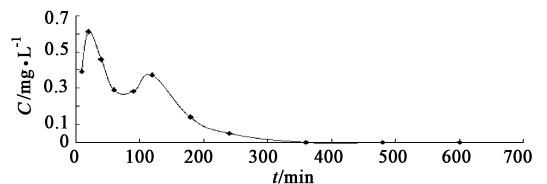
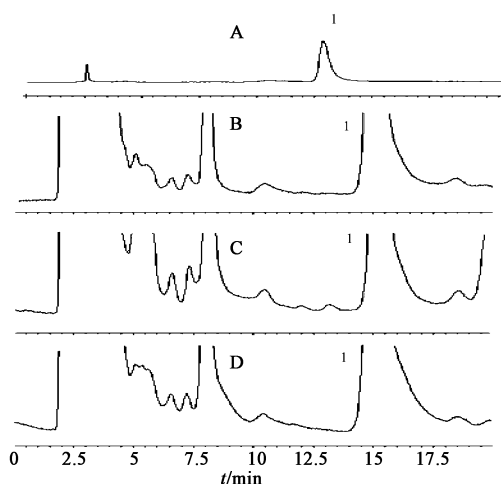


图 2 大鼠口服麻黄汤后盐酸麻黄碱的平均药-时曲线

**3 讨论**

试验结果发现选择盐酸麻黄碱作为单一指标考



A. 对照品; B. 空白血浆; C. 给药 10 min 血浆样品;  
D. 给药 6 h 血浆样品; 1. 盐酸麻黄碱

图 3 大鼠口服麻黄汤后血浆中盐酸麻黄碱 HPLC

察麻黄汤在大鼠体内的药动学过程易产生误差,不能代表复方中多成分的体内行为。本文酸性染料比色法采用了涡旋萃取,而不是传统的分液漏斗萃取,大大提高了萃取结果的稳定性和操作的方便性。血浆中总生物碱含量测定的方法学考察时,取空白血浆同法操作作参比,可直接消除空白血浆对测定结果的干扰。

试验中每个取血时间点大鼠为 6 只,每只采血仅 1 次,主要是为了保证充足采血量,同时也能避免大鼠由于每次采血时受惊吓对结果的影响。考虑到麻黄在中药复方中由于受多种组分干扰,很难直接测定麻黄碱含量,进入体内后经代谢、排泄,干扰物质更多,影响因素更为复杂,故本文按人体 2 倍处方量对大鼠灌胃给药,给药剂量  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

[参考文献]

[1] 白刚. 中药方剂研究与应用大全[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1995: 934.

[2] 刘鑫, 邹中兰, 梅全慧, 等. 射干麻黄汤对慢性哮喘大鼠缺氧诱导因子-1 $\alpha$ 、血管内皮生长因子表达及气道重塑的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(8): 190.

[3] Aymard G, Labarthe B, Warot D, et al. Sensitive determination of ephedrine and norephedrine in human plasma samples using derivatization with 9-fluorenylmethyl chloroformate and liquid chromatography[J]. J Chromatogr B, 2000, 744(1): 25.

[4] Valentine J L, Middleton R. GC-MS identification of sympathomimetic amine drugs in urine; rapid methodology applicable for emergency clinical toxicology[J]. J Anal Toxicol, 2000, 24(3): 211.

[5] 屈艳格, 陈军, 王冬月, 等. 马钱子生物碱类成分经口给药后在大鼠体内的药动学研究[J]. 中草药, 2013, 44(8): 1008.

[6] 蔡皓, 王丹丹, 刘晓, 等. 马钱子碱、马钱子总生物碱与马钱子粉在大鼠体内药动学的比较[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(14): 2160.

[7] 方维军, 陈坚, 张灯玲, 等. 两种糖浆剂中盐酸伪麻黄碱的药代动力学和相对生物利用度[J]. 中国药学杂志, 1999, 34(7): 472.

[8] 贺丰. GC-MS 法研究麻黄汤中麻黄碱、伪麻黄碱的人体内过程[J]. 中药新药与临床药理, 2004, 15(5): 336.

[9] 贺丰, 罗佳波, 陈飞龙, 等. 麻黄汤中麻黄碱、伪麻黄碱在人体药代动力学研究[J]. 中药药理与临床, 2005, 21(1): 1.

[10] 刘春海, 罗杰英. 麻黄汤麻黄先煎的试验研究[J]. 中医药学报, 2002, 30(6): 15.

[11] 杨德斌, 仝燕, 马振山, 等. HPLC 法同时测定小儿平喘祛痰颗粒中盐酸麻黄碱, 盐酸伪麻黄碱、苦杏仁苷含量[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(5): 687.

[责任编辑 刘德文]

