

· 药物代谢 ·

麻黄-杏仁药对有效成分在大鼠体内组织分布的定量分析

宋帅, 梁德东, 任孟月, 侯玮婷, 罗佳波*

(南方医科大学 中药药学院, 广东省中药制剂重点实验室, 广州 510515)

[摘要] 目的:建立并验证同时测定大鼠组织中去甲基麻黄碱、去甲基伪麻黄碱、麻黄碱、伪麻黄碱、甲基麻黄碱、苦杏仁苷和野樱苷的 UPLC-MS/MS,分析大鼠口服麻黄-杏仁药对水提物后有效成分在主要脏器组织中的分布情况。方法:参照 FDA 生物样本分析方法的方法学验证指南完成该测定的方法验证。采用盐酸苯海拉明和葛根素 2 种内标物分别对 5 种麻黄生物碱和苦杏仁苷、野樱苷进行定量分析。结果:该方法灵敏可靠,9 种化合物(含 3 对差向异构体)在 18 min 内快速分离。麻黄生物碱在各组织中广泛分布;苦杏仁苷在体内分布较少,组织中(脑除外)可检测到其代谢产物野樱苷。与体外药物原形不同,*D*-野樱苷在组织中峰浓度(心、肝、脾、肺、肾中质量分数分别为 170.5, 112.8, 98.4, 152.3, 381.7 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$)低于 *L*-野樱苷(心、肝、脾、肺、肾依次为 906.4, 652.3, 177.4, 500.9, 2 060.4 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$)。结论:建立的 LC-MS/MS 适用于大鼠口服麻黄-杏仁药对水提物后的组织分布研究。*D*-野樱苷在组织分布减少可能是麻黄-杏仁药对毒性拮抗作用的内在体现。麻黄生物碱和苦杏仁苷、野樱苷在肺组织中均有较高分布,这可能与两药协同平喘的药效学机制有关。

[关键词] 麻黄-杏仁; 药对; 苦杏仁苷; 野樱苷; 麻黄碱; 组织分布

[中图分类号] R969.1;R945;R284.1;R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)12-0092-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016120092

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160425.1617.002.html>

[网络出版时间] 2016-04-25 16:17

Quantitative Analysis of Tissue Distribution of Bioactive Compounds in Rats After Oral Administration of Ephedrae Herba-Amygdalus Communis Vas Extract

SONG Shuai, LIANG De-dong, REN Meng-yue, HOU Wei-ting, LUO Jia-bo*

(Guangdong Provincial Key Laboratory of Chinese Medicine Pharmaceutics, School of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

[Abstract] **Objective:** To develop a simple UPLC-MS/MS method for simultaneous determination of norephedrine, norpseudoephedrine, ephedrine, pseudoephedrine, methylephedrine, amygdalin and prunasin in rat tissues and to analysis tissue distribution of these compounds in rats after oral administration of Ephedrae Herba-Amygdalus Communis Vas extract. **Method:** The current method was validated according to the FDA guidelines for the validation of biological sample analysis method. Diphenhydramine hydrochloride and puerarin were selected for quantitative analysis of alkaloids in Ephedrae Herba, amygdalin and prunasin, respectively. **Result:** Nine active compounds, including 3 pairs of epimers, were separated and quantified within 18 min by a sensitive and reliable UPLC-MS/MS method. Alkaloids in Ephedrae Herba were widely distributed in major tissues. Poor tissue distribution of amygdalin was observed, and prunasin (metabolite of amygdalin) can be detected in tissues except the brain. Contrary to *D*-amygdalin *in vivo*, *D*-prunasin had lower concentration (its concentrations in heart, liver, spleen, lung, kidney were 170.5, 112.8, 98.4, 152.3, 381.7 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$) in tissues by comparing with

[收稿日期] 20150920(001)

[基金项目] 国家自然科学基金重点项目(81030066)

[第一作者] 宋帅,在读博士,从事中药药代动力学研究,Tel:020-62789112,E-mail:vae0558@163.com

[通讯作者] *罗佳波,教授,从事中药新药与复方配伍规律研究,Tel:020-61648266,E-mail:ljb@smu.edu.cn

L-prunasin (its concentrations in heart, liver, spleen, lung, kidney were 906.4, 652.3, 177.4, 500.9, 2 060.4 ng·g⁻¹). **Conclusion:** The method is successfully applied to tissue distribution study in rats after intragastric administration of *Ephedrae Herba*-*Amygdalus Communis* Vas extract. Reduction of *D*-prunasin in tissues may be the reason of toxicity antagonism *in vivo*. High concentration of alkaloids in *Ephedrae Herba*, amygdalin and prunasin are found in lung, which may be correlated with its synergistic anti-asthmatic effects.

[**Key words**] *Ephedrae Herba*-*Amygdalus Communis* Vas; herbal pair; amygdalin; prunasin; ephedrine; tissue distribution

药对是根据药物的作用特点,选择性地将 2 味药进行配伍的组成形式。麻黄-杏仁是经方中麻杏类方所派生出的经典药对。麻黄宣肺解表,杏仁苦降定喘。两药同归肺经,一温一苦,一宣一降,合于肺之气机^[1]。麻黄药用历史悠久,使用广泛。近年来,关于麻黄类生物碱的安全性问题受到关注。苯丙醇胺类成分药品因其具有增加心律失常和出血性脑卒中风险而被禁用^[2]。杏仁为 2015 年版《中国药典》所收录的小毒中药。现代研究表明杏仁中苦杏仁苷与肺组织中 β 受体具有高度亲和力^[3],苦杏仁苷体内代谢产生少量氢氰酸也会通过抑制呼吸中枢而发挥平喘止咳作用。同时,氢氰酸中毒也构成了杏仁的主要不良反应^[4]。

中药复方有效成分吸收后作用于靶器官和细胞是其整体药效或毒性的最终体现。目前,麻黄-杏仁药对的研究多集中于毒效^[5-6]、含量测定^[7]和血浆药动学等研究^[8]。关于其效应成分在主要脏器中的组织分布尚未见报道。本实验采用超高效液相色谱串联三重四级杆质谱法(UPLC-MS/MS)开展大鼠灌服麻黄-杏仁汤剂后 7 种有效成分的组织分布研究,为进一步阐释该药对的“增效减毒”配伍机制提供参考。

1 材料

1290 型超高效液相色谱仪和 6410B 型电喷雾三重串联四级杆质谱仪(美国 Agilent 公司),HC-3018R 型高速冷冻离心机(安徽中科中佳科学仪器公司),BP211D 型 1/10 万电子分析天平(德国 Sartorius 公司),XW-80A 型旋涡混合仪(海门其林贝尔仪器有限公司)。

麻黄(产地吉林,批号 110901)和杏仁(产地甘肃,批号 110901)饮片均购自广东致信中药饮片有限公司,经南方医科大学中药鉴定学教研室马骥教授鉴定,分别为麻黄科植物草麻黄 *Ephedra sinica* 的干燥草质茎,蔷薇科植物山杏 *Prunus armeniaca* var. *ansu* 的干燥成熟种子;苦杏仁苷、盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、盐酸甲基麻黄碱、盐酸苯海拉明和葛根素

对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 171241-201007, 110820-201004, 171237-200807, 171247-200301, 100066-200807, 110752-200912),野樱苷(云南西力生物技术有限公司,批号 BBP02178,纯度 >96%),盐酸去甲基麻黄碱和盐酸去甲基伪麻黄碱(赤峰蒙欣药业有限公司,纯度 >98%),水为双蒸水,甲醇、乙腈均为色谱纯,其余试剂均为市售分析纯。

SPF 级雄性 SD 大鼠,体重(200 ± 20) g,由南方医科大学实验动物中心提供,合格证号 SCXK(粤)2011-0015。

2 方法

2.1 UPLC-MS/MS 条件

2.1.1 色谱条件 Zorbax SB-C₁₈ 色谱柱(3.0 mm × 100 mm, 1.8 μm),流动相乙腈(A)-0.1% 甲酸水溶液(B)梯度洗脱(0 ~ 1.0 min, 5% A; 1.0 ~ 8.0 min, 5% ~ 7% A; 8.0 ~ 10.0 min, 7% ~ 12% A; 10.0 ~ 13.0 min, 12% A; 13.0 ~ 16.5 min, 12% ~ 30% A; 16.5 ~ 18.0 min, 30% ~ 5% A),流速 0.4 mL·min⁻¹,柱温 25 °C,进样量 5 μL。

2.1.2 质谱条件 采用多反应监测(MRM)模式,正离子模式扫描;源参数设置为毛细管电压 3.50 kV,干燥气流速 10 L·min⁻¹,干燥气温度 325 °C,雾化压力 275.8 kPa。各化合物定量分析 MRM 参数见表 1。

2.2 混合对照品溶液和质控样本的制备 精密称定各对照品 10.00 mg,分别置于不同的 10 mL 量瓶中,其中麻黄生物碱采用甲醇溶解,苦杏仁苷和野樱苷采用 50% 甲醇水溶液溶解,得质量浓度均为 1 g·L⁻¹的储备液。精密移取各储备液,置于同一量瓶中,加甲醇定容,得去甲基麻黄碱、去甲基伪麻黄碱、麻黄碱、伪麻黄碱、甲基麻黄碱、苦杏仁苷和野樱苷质量浓度分别为 20.2, 20.1, 202.4, 101.2, 41.4, 18.4, 54.0 mg·L⁻¹的混合对照品工作溶液,并依次稀释得到系列溶液用于制备标准曲线和质控样本。所有对照品溶液均放置于 4 °C 冰箱保存。

表 1 目标化合物和内标物的多反应监测参数

Table 1 Multiple reaction monitoring transitions and specific parameters for analytes and internal standards

化合物	相对分子质量 /Da	分子离子峰	离子对 (母离子/子离子)	毛细管出口电压/V	碰撞能 /V
去甲基麻黄碱/去甲基伪麻黄碱	151.1	[M + H] ⁺	152.0/134.1	75	8
			152.0/117.1	75	8
麻黄碱/伪麻黄碱	165.2	[M + H] ⁺	166.1/148.1	88	12
			166.1/117.1	88	12
甲基麻黄碱	179.2	[M + H] ⁺	180.2/162.1	110	12
			180.1/147.1	110	12
野樱苷	295.3	[M + NH ₄] ⁺	313.3/180.1	90	9
			313.3/144.9	90	9
苦杏仁苷	457.4	[M + NH ₄] ⁺	475.2/325.1	90	12
			475.2/162.9	90	12
苯海拉明(内标物 1)	255.1	[M + H] ⁺	256.1/167.0	80	6
葛根素(内标物 2)	416.3	[M + H] ⁺	417.1/297.1	135	26
			417.1/267.1	135	26

2.3 内标溶液制备 精密称定盐酸苯海拉明和葛根素各 10.00 mg, 分别加甲醇溶解并定容至 10 mL, 得 1 g·L⁻¹ 储备液。精密移取储备液适量, 加甲醇稀释, 得质量浓度分别为 240, 250 μg·L⁻¹ 的内标工作溶液。

2.4 受试药物的制备^[6] 称取麻黄和杏仁各 27 g, 加水 650 mL 浸泡 30 min, 煮沸后继续煎煮 1 h, 保持微沸, 过滤; 滤渣加水 485 mL 煎煮 1 h, 过滤, 合并滤液, 减压浓缩至生药质量浓度 0.5 g·mL⁻¹ 的受试药物溶液并置于 4 °C 冰箱保存备用。

2.5 组织分布试验

2.5.1 给药方案与样本采集 SD 大鼠 30 只, 随机分为 5 组, 给药前禁食 12 h, 自由饮水, 给药剂量 3 g·kg⁻¹ (以生药量计)^[6]。大鼠分别于给药前和给药后 0.5, 1, 2, 4 h 处死, 迅速摘取心、肝、脾、肺、肾和脑组织。组织样本经生理盐水洗净血渍后, 用滤纸吸干并迅速称重, 放置于 -80 °C 保存备用。

2.5.2 组织样本预处理 组织样本剪成小块后, 加入 3 倍量磷酸盐缓冲液, 高速匀浆 (3 000 r·min⁻¹, 2 min)。组织匀浆涡旋 1 min, 于 3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 得组织匀浆上清液。准确吸取内标溶液 50 μL 置于 1.5 mL 离心管中, 氮气流下挥干, 加入各组织匀浆上清液 100 μL, 涡旋 1 min。混合液加乙腈 400 μL 沉淀蛋白, 涡旋 2 min, 于 10 000 r·min⁻¹ 离心 10 min。准确移取上清液 400 μL, 氮气流下吹干, 残留物加 25% 甲醇 200 μL 涡旋复溶。复溶液经 14 000 r·min⁻¹, 4 °C 离心 15 min, 吸取上清液 150 μL 放置于进样瓶中, 待分析。

2.5.3 数据分析 采用双内标法计算各组织的药

物分布, 其中盐酸苯海拉明为麻黄生物碱内标物, 葛根素为苦杏仁苷和野樱苷的内标物。安捷伦 MassHunter 工作站和定性分析软件用于数据采集和分析。

2.6 方法学验证 以肝脏为代表性组织, 根据 FDA 生物分析方法学验证指南对检测方法进行验证^[9]。验证内容包括专属性、线性范围、最低定量限、精密度、准确度、绝对回收率、基质效应和稳定性。

2.7 组织样品的测定 取出组织样本, 解冻并按 2.5.2 项下方法处理, 以每个分析批内各化合物的随行标准曲线计算其药物浓度, 推算各组织中药物分布情况。

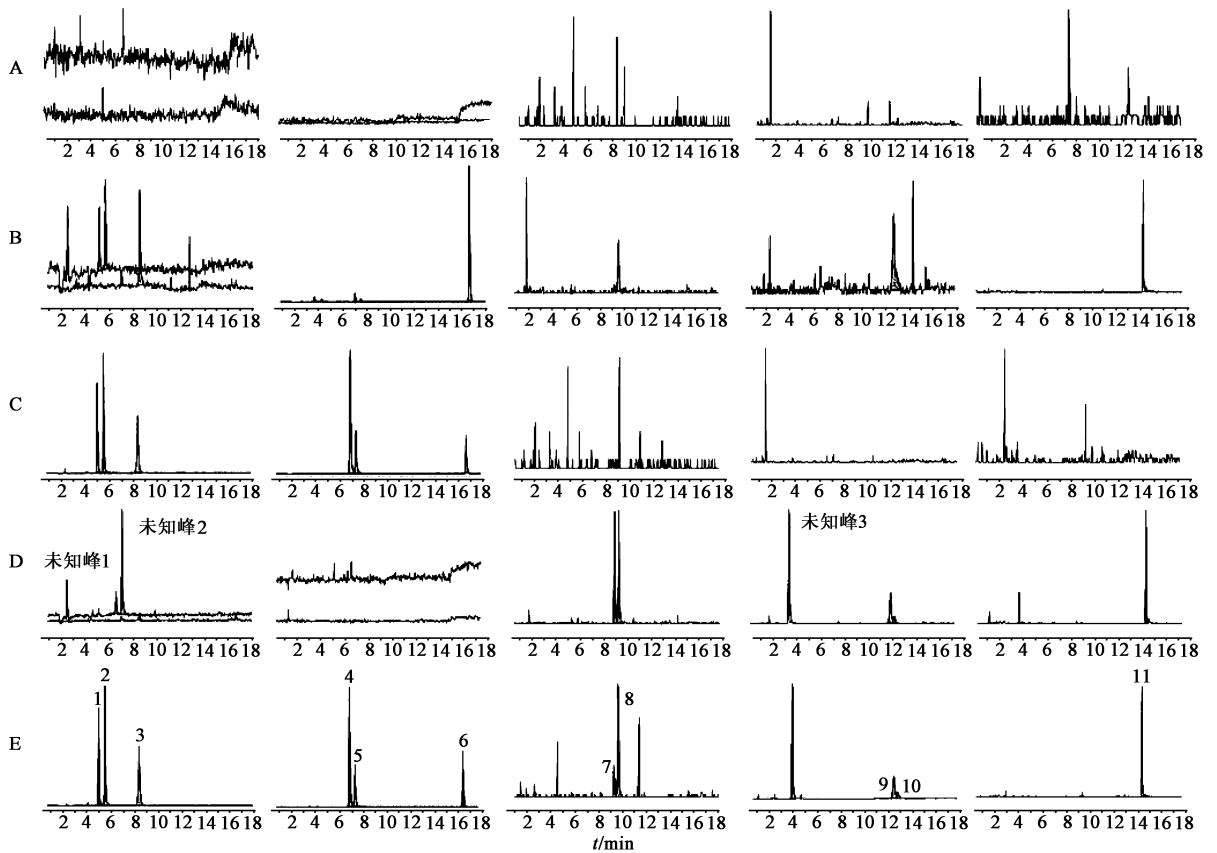
3 结果

3.1 方法学验证

3.1.1 专属性 9 个目标化合物的提取色谱峰在 18 min 内分离完全, 各目标化合物的定量离子色谱峰无相互干扰, 说明该方法具有良好的专属性。见图 1。

3.1.2 最低定量限和线性范围 以各化合物质量浓度为横坐标, 各化合物与内标物峰面积比值为纵坐标, 得标准曲线, 见表 2。权重因子为 1/X。各化合物的加权标准曲线呈良好线性。各化合物在最低定量限下, 日内和日间精密度 RSD 均 < 15.0%, 准确度 (RE) -17.3% ~ 2.5%, 均在可接受范围。

3.1.3 精密度和准确度 选择低、中、高 3 个质控质量浓度 (去甲基麻黄碱 0.40, 4.04, 40.4 μg·L⁻¹, 去甲基伪麻黄碱 0.40, 4.02, 40.2 μg·L⁻¹, 麻黄碱 4.05, 40.48, 404.8 μg·L⁻¹, 伪麻黄碱 2.02, 20.24,



A. 空白样品; B. 空白样品 + 定量限下混合对照品; C. 麻黄给药 1 h 后样品; D. 杏仁给药 1 h 后样品; E. 麻黄-杏仁药对水提物给药 1 h 后样品;
1. 去甲基麻黄碱; 2. 去甲基伪麻黄碱; 3. 甲基麻黄碱; 4. 麻黄碱; 5. 伪麻黄碱; 6. 盐酸苯海拉明; 7. L-苦杏仁苷; 8. D-苦杏仁苷; 9. L-野樱苷;
10. D-野樱苷; 11. 葛根素

图 1 肝组织匀浆多反应监测色谱

Fig. 1 Representative multiple reaction monitoring chromatograms of liver homogenates

表 2 麻黄-杏仁药对中目标化合物的最低定量限和线性关系

Table 2 Regression data and limit of quantity for analytes

化合物	校正曲线	R^2	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	最低定量限/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
去甲基麻黄碱	$Y=0.003701X-0.000029$	0.9996	0.20~40.4	0.20
去甲基伪麻黄碱	$Y=0.004087X+0.000291$	0.9985	0.20~40.2	0.20
麻黄碱	$Y=0.003891X+0.000952$	0.9990	2.02~404.8	2.02
伪麻黄碱	$Y=0.003714X+0.000120$	0.9999	1.01~202.4	1.01
甲基麻黄碱	$Y=0.003043X+0.000107$	0.9994	0.41~82.9	0.41
野樱苷	$Y=0.002503X-0.000630$	0.9989	13.5~3375.0	13.50
苦杏仁苷	$Y=0.003169X-0.001539$	0.9997	4.6~1150.0	4.60

202.4 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 甲基麻黄碱 0.83, 8.29, 82.9 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 野樱苷 27, 675, 2700 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 苦杏仁苷 9.2, 230, 920 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 平行处理 6 份样本, 结果各化合物低、中、高质量浓度的日内和日间精密度 RSD 2.1%~13.9%, RE -13.5%~12.2%, 表明该方法精密度、准确度良好。

3.1.4 绝对回收率和基质效应 把混合对照品(含内标)加入离心管后, 氮气挥干, 加入空白组织匀浆 100 μL , 按 2.5.2 项下方法处理, 各化合物峰面积记作 A; 分别取空白组织匀浆和水各 100 μL ,

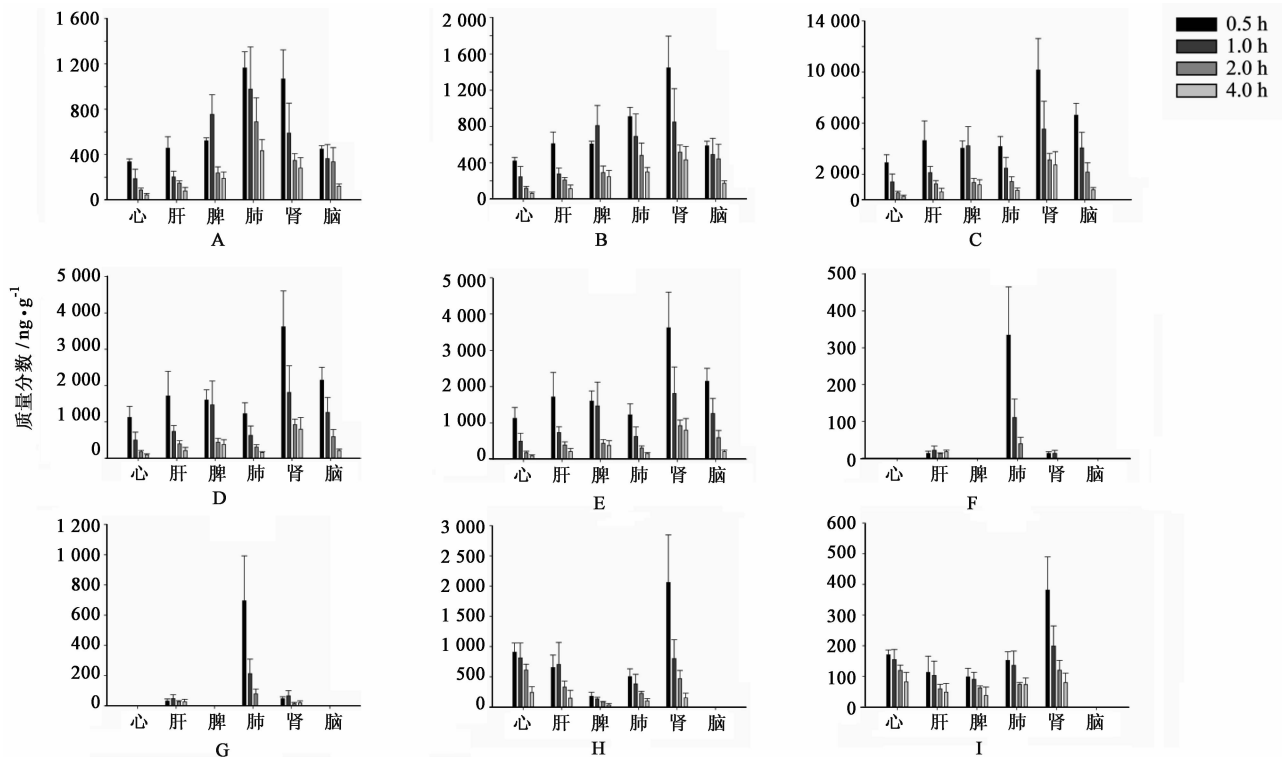
按 2.5.2 项下方法处理, 离心分取上清, 补加混合对照品溶液, 氮气吹干后复溶, 按 2.1 项下方法分析, 测得的各化合物峰面积分别记作 B 和 C。按 $A/B \times 100\%$ 计算各化合物的绝对回收率 63.6%~93.6%, 按 $B/C \times 100\%$ 计算各化合物基质效应 81.9%~112.7%, 表明该方法基质效应可忽略。

3.1.5 稳定性 分别从短期(6 h), 长期(14 d), 冻融循环 3 次和处理后样本放置的稳定性综合评价该方法的稳定性。结果表明含各化合物的组织匀浆样本在室温下放置 6 h (RE -10.4%~3.1%, RSD

2.6% ~ 13.3%), -80 °C 下贮存 14 d (RE - 0.1% ~ 7.4%, RSD 2.6% ~ 14.8%), 经 3 次冻融循环 (RE - 11.5% ~ 2.2%, RSD 1.6% ~ 11.6%) 稳定性良好。处理好的样品放置于 25 °C 下 12 h, RE - 8.1% ~ 5.1%, RSD 1.8% ~ 14.6%, 符合相关技术要求, 表明该方法下处理好的样本在 25 °C 下放置 12 h 稳定。

3.2 麻黄-杏仁药对有效成分在各组织中的分布
将各时间点下各组织样本按 3.1 项下验证的方法进行含量测定。结果表明大鼠灌胃麻黄-杏仁药对水提物后, 体内可检测到 5 种麻黄生物碱原型、苦杏仁

苷和野樱苷(苦杏仁苷活性代谢产物)。5 种麻黄生物碱在各组织中的分布比例与其体外浓度的比例相当, 即麻黄碱在各组织含量最多, 伪麻黄碱次之, 去甲基麻黄碱和去甲基伪麻黄碱最少; 各生物碱在脑、肺和肾组织分布相对较多。同时对苦杏仁苷和野樱苷的差向异构体在各组织的分布情况进行分析, 结果显示苦杏仁苷在体内很少以原型存在, 大部分转化其代谢产物野樱苷, 且苦杏仁苷与野樱苷的构型比不同。两者在脑组织均无分布, 在心、肺和肾组织含量较高。见图 2。



A. 去甲基麻黄碱; B. 去甲基伪麻黄碱; C. 麻黄碱; D. 伪麻黄碱; E. 甲基麻黄碱; F. L-苦杏仁苷; G. D-苦杏仁苷; H. L-野樱苷; I. D-野樱苷

图 2 大鼠口服麻黄-杏仁药对水提物后各有效成分在体内组织的分布情况 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 2 Tissue distribution of bioactive compounds in rats after oral administration of Ephedrae Herba-Amygdalus Communis Vas extract ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

4 讨论

4.1 色谱条件优化 尽管三重串联四级杆质谱有较好的灵敏度, 但对于同分异构体特别是差向异构体却难以获得较满意的分离效果, 这是由于差向异构体往往有着相似的质谱行为。UPLC 具有压力负荷高、分离速度快等优点, 串联三重四级杆质谱后极大地拓展了其分析性能。本文选择 Zorbax SB-C₁₈ 色谱柱 (3.0 mm × 100 mm, 1.8 μm), 实现了低线速度下的较高柱效。但由于 L-野樱苷和 D-野樱苷的理化性质过于相近, 在目前的 LC-MS/MS 条件下难以实现满意的拆分。但本文通过定性分析软件的垂线法峰识别功能, 对不同构型野樱苷的体内分布特点

仍做出了尝试性分析。

4.2 内标与样本前处理选择

4.2.1 内标物的选择 预试验结果发现麻黄-杏仁药对的体内药物浓度有较大差异。采用一种内标化合物对多成分、浓度差异悬殊的中药复方开展体内药物分析存在一定困难。本文分别选择盐酸苯海拉明和葛根素为内标物, 实现了对麻黄类生物碱和杏仁有效成分(苦杏仁苷和野樱苷)内标法定量研究。

4.2.2 样本前处理方法的选择 生物样本的前处理方法主要包括蛋白沉淀法、液液萃取法和固相萃取法等技术。课题组前期采用样本碱化处理后联合二氯甲烷-乙醚液液萃取方法来实现麻黄生物碱体

内药物分析^[10]。但是苦杏仁苷水溶性较好且在碱性环境中不稳定^[11],故前期方法难以满足麻黄-杏仁药对体内效应成分的同时测定。通过对比考察丙酮、甲醇、乙酸乙酯等溶剂后,本文最终选择乙腈一步蛋白沉淀法作为其组织样本的前处理方法。该方法操作简单,且实现了多成分较高的回收率和可忽略的基质效应。实验表明残留物采用 25% 甲醇溶液复溶后有利于提高目标化合物的回收率并更好地分离 4 对差向异构体。

4.3 体内药物分布 苦杏仁苷存在 *D*-和 *L*-共 2 种构型^[11-12]。*D*-苦杏仁苷是杏仁的有效成分,同时也是其毒性成分^[13-14]。前期研究表明杏仁配伍麻黄可促进 *D*-苦杏仁苷的溶出^[7]。与体外原型药物不同,配伍后 *D*-野樱苷在体内各组织含量较低(与 *L*-野樱苷相比),这一分布特征与课题组前期药代动力学的研究结果相吻合^[8],即大鼠灌服麻黄-杏仁药对水提物后,苦杏仁苷在体内存在立体选择性代谢。前期研究还发现麻黄杏仁配伍有明确的急性毒性拮抗作用^[6]。野樱苷的体内立体选择性分布特征可能是课题组前期毒性拮抗作用的内在体现。

肺组织存在大量 β_2 受体,且与苦杏仁苷和麻黄类生物碱有较好的亲和力^[15]。本文研究结果发现苦杏仁苷,*D*-野樱苷和麻黄类生物碱在肺组织均有较高含量分布。这一现象也提示该分布特征可能与麻黄、杏仁两药同归肺经,协同平喘的作用特点有关。

4.4 未知化合物的推测 在提取去甲基麻黄碱(去甲基伪麻黄碱)和野樱苷色谱峰时,同时发现了 3 个未知峰,见图 1D。经过色谱峰归属的比对,初步认为这 3 个未知峰来自于杏仁。通过查阅文献,苦杏仁苷水解过程中可产生扁桃酸,且其准分子离子峰为 152^[16]。*m/z* 313 的未知峰和野樱苷存在相似的质谱特征,即脱去一分子扁桃腈残基(M-133)和脱水(M-18),推测该未知物和野樱苷应具有相似骨架结构。结合文献报道,野樱苷存在酰胺化代谢途径,即野樱苷中腈基在体内可转化为 prunasin amide,其准分子离子峰 313^[17]。因此,推测实验中发现的未知峰有可能是苦杏仁苷分解产生的扁桃酸及野樱苷在体内酰胺化的代谢产物。苦杏仁苷是自然界广泛存在的一类氰苷化合物,其毒性主要源于体内水解后氰化物的释放。进一步研究苦杏仁苷特别是其分子上腈基的体内处置过程,对于杏仁的临床安全用药是十分必要的。

[参考文献]

[1] 刘贵军,李然,李全. 麻黄常用药对的配伍方法[J].

中医药信息,2011,28(2):13-14.

[2] 国家食品药品监督管理总局. 关于暂停使用和销售含苯丙醇胺的药品制剂的通告[EB/OL]. <http://www.sda.gov.cn/WS01/CL0844/9779.html>, 2000-11-15.

[3] 郑晓晖,赵新锋,杨荣,等. β_2 -肾上腺素受体亲和色谱及其在苦杏仁活性成分筛选中的应用[J]. 科学通报,2007,52(18):2111-2115.

[4] 夏其乐,王涛,陆胜民,等. 苦杏仁苷的分析、提取纯化及药理作用研究进展[J]. 食品科学,2013,34(21):403-407.

[5] 谭镇岳. 麻黄、杏仁配伍对苦杏仁毒性影响及最佳比例研究[J]. 社区医学杂志,2011,9(24):77-78.

[6] 谭晓梅,郭阳,余林中,等. 麻黄-杏仁药对配伍及不同配比对急性毒性及平喘作用的影响[J]. 中药药理与临床,2013,29(1):82-84.

[7] 谢颖,汤庆发,徐文杰,等. 不同配伍比例对麻黄-杏仁药对有效成分含量的影响[J]. 时珍国医国药,2012,23(11):2686-2688.

[8] Song S, Chen F, Xing X, et al. Concurrent quantification and comparative pharmacokinetic analysis of bioactive compounds in the Herba Ephedrae-Semen Armeniacae Amarum herb pair[J]. J Pharm Biomed Anal, 2015, 109:67-73.

[9] FDA. Guidance for industry: bioanalytical method validation[J] Federal Register,2001,66(4):206-207.

[10] 汤庆发,谢颖,陈飞龙,等. 苦杏仁中苦杏仁苷的存在形式及其影响因素[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(8):107-109.

[11] Wei P, Huo H L, Ma Q H, et al. Pharmacokinetic comparisons of five ephedrine alkaloids following oral administration of four different Mahuang-Guizhi herb-pair aqueous extracts ratios in rats [J]. J Ethnopharmacol,2014,155(1):642-648.

[12] 吴军,屠鹏飞,赵玉英. 补阳还五汤中苦杏仁苷的存在形式及其产生机制[J]. 中草药,2002,33(2):7-10.

[13] 房敏峰,付志玲,王启林,等. 霜制对苦杏仁中苦杏仁苷在大鼠体内代谢及组织分布的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(11):132-137.

[14] Chang H K, Shin M S, Yang H Y, et al. Amygdalin induces apoptosis through regulation of Bax and Bcl-2 expressions in human DU145 and LNCaP prostate cancer cells[J]. Biol Pharm Bull,2006,29(8):1597-1602.

[15] Zheng X, Zhao X, Yang R, et al. β_2 -Adrenoceptor affinity chromatography and its application in the screening of the active compounds from Semen Armeniacae Amarum [J]. Chinese Sci Bull,2008,53(6):842-847.

[16] Wikipedia. Mandelic acid [EB/OL]. https://en.wikipedia.org/wiki/Mandelic_acid,2015.

[17] Pičmanová M, Neilson E H, Motawia M S, et al. A recycling pathway for cyanogenic glycosides evidenced by the comparative metabolic profiling in three cyanogenic plant species[J]. Biochem J,2015,469(3):375-389.

[责任编辑 刘德文]