

# 基于发汗生物效价的麻黄质量评价研究<sup>△</sup>

曹喆<sup>1,2\*</sup>, 毛福英<sup>1,2,3</sup>, 刘秀<sup>1,2</sup>, 谢丽霞<sup>1</sup>, 赵云生<sup>1,2,3#</sup>, 马洪文<sup>4</sup>(1.宁夏医科大学药学院, 银川 750004; 2.宁夏回药现代化工程技术研究中心, 银川 750004; 3.回医药现代化省部共建教育部重点实验室, 银川 750004; 4.宁夏农林科学院农作物研究所, 银川 750004)

中图分类号 R282.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)13-1759-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.13.09

**摘要** 目的: 对不同产地麻黄质量进行评价。方法: 建立大鼠发汗药理模型, 以大鼠发汗量为检测指标, 对26个不同产地麻黄的质量进行评价。每个产地麻黄样品取12只大鼠随机分为高、低剂量组(11.25、9 g/kg, 剂距为1:0.8), ig给药, 以对照药材(草麻黄)的发汗生物效价为10 U/g计, 按照《中国药典》生物检定统计法计算不同产地麻黄的发汗生物效价; 采用高效液相色谱法测定麻黄药材中麻黄碱与伪麻黄碱含量; 对26个不同产地麻黄的发汗生物效价进行聚类分析。结果: 26个不同产地麻黄的发汗生物效价介于7.08~22.09 U/g, 以甘肃古浪草麻黄发汗生物效价最高、甘肃武山中麻黄最低, 草麻黄平均效价高于中麻黄; 麻黄发汗生物效价的变化趋势与麻黄碱及伪麻黄碱总含量变化趋势基本一致, 但相关性不显著; 聚类分析结果显示, 26份麻黄中有17份(65.38%)发汗生物效价高于对照药材, 4份(15.38%)高于9.55 U/g并与对照药材的生物效价相近。结论: 所考察的26个不同产地麻黄中80%以上质量合格。

**关键词** 麻黄; 发汗生物效价; 麻黄碱; 伪麻黄碱; 含量; 质量评价

## Study on the Quality of *Ephedrae herba* Based on Sweating Biological Potency

CAO Zhe<sup>1,2</sup>, MAO Fuying<sup>1,2,3</sup>, LIU Xiu<sup>1,2</sup>, XIE Lixia<sup>1</sup>, ZHAO Yunsheng<sup>1,2,3</sup>, MA Hongwen<sup>4</sup>(1.College of Pharmacy, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China; 2.Ningxia Research Center of Modern Hui Medicine Engineering and Technology, Yinchuan 750004, China; 3.Key Lab for Modernization of Hui Medicine, Ministry of Education, Yinchuan 750004, China; 4.Institute of Crop Research, Ningxia Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Yinchuan 750004, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE:** To evaluate the quality of *Ephedrae herba* from different production areas. **METHODS:** The sweating pharmacological model of rat was set up; using sweating volume as index, the quality of 26 *E. herba* from different production areas were evaluated. 12 rats were randomly divided into high-dose and low-dose groups (11.25, 9 g/kg, dose spacing was 1:0.8), and they were given relevant medicine intragastrically. The sweating biological potency of reference medicinal material (*Ephedra sinica*) was 10 U/g, and that of *E. herba* from different production areas were calculated according to biometric statistical method stated in *Chinese Pharmacopoeia*; the contents of ephedrine and pseudoephedrine in *E. herba* were determined by HPLC; cluster analysis was conducted for the biological potency value of 26 samples from different production areas. **RESULTS:** The biological potency values of 26 samples from different production areas were 7.08-22.09 U/g; the sweating biological potency value of *E. sinica* from Gansu Gulang was the highest, and that of *Ephedra intermedia* from Gansu Wushan was the lowest; the average potency value from *E. sinica* was higher than that from *E. intermedia*, and the change trend of biological potency value was basically same as that of total content of ephedrine and pseudoephedrine, but both were significantly uncorrelated. Results of cluster analysis showed that biological potency values of 17 in 26 samples (65.38%) were higher than that of reference medicinal materials; those of 4 (15.38%) were higher than 9.55 U/g, close to that of reference medicinal material. **CONCLUSIONS:** More than 80% of *E. herba* from different production areas are qualified.

**KEYWORDS** *Ephedrae herba*; Sweating biological potency; Ephedrine; Pseudoephedrine; Content; Quality evaluation

麻黄为常用中药, 为麻黄科植物草麻黄(*Ephedra sinica* Stapf)、中麻黄(*Ephedra intermedia* Schrenk et C.A.Mey.)或木贼麻黄(*Ephedra equisetina* Bge.)的干燥草茎, 临床应用广泛, 具有发汗散寒、宣肺平喘、利水消肿、去邪热气、止咳逆上、除寒、破积聚等功效<sup>[1]</sup>, 在历版《中国药典》中均有记载。但目前市售麻黄药材产地众多、质量参差不齐, 严重影响到麻黄的

临床疗效。

生物效价检测又称生物活性鉴定法, 是以定量药理学为基础, 通过比较对照物和供试品对生物体或离体器官及组织的特定生物效应来控制 and 评价供试品质量, 适用于结构复杂或理化方法不能测定其含量、或不能反映其临床生物活性的药物, 在中药鉴定, 质量控制和品质评价中具有独到的优势<sup>[2]</sup>。

笔者选择形态、生药性状及化学成分等高度相似的26个不同产地的麻黄药材, 基于麻黄“发汗散寒”的功效, 测定不同产地麻黄对大鼠足后跖发汗斑点数数的影响, 在此基础上依据2015年版《中国药典》(四部)生物检定法建立不同产地麻黄发汗生物效价的质量评价方法<sup>[3]</sup>, 将定量药理学与药典生物药品

△ 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No. 81160505)

\* 硕士研究生。研究方向: 中药品质与资源。电话: 0951-6980193。E-mail: cao6026@qq.com

# 通信作者: 副教授, 博士。研究方向: 中药品质与资源。电话: 0951-6980193。E-mail: zwhjzs@126.com

质量评价法引入到麻黄药材的质量评价中,为麻黄质量评价研究提供一种新的研究思路。

## 1 材料

### 1.1 仪器

Nikon D7100 微距摄像机[尼康映像仪器销售(中国)有限公司];大鼠固定器(上海化科实验器材有限公司)。

### 1.2 药材与试剂

麻黄药材分别采自宁夏、甘肃、内蒙、新疆、山西、陕西等地,经甘肃师范大学晏民生副教授鉴定为草麻黄 *Ephedra sinica* Stapf 与中麻黄 *E. intermedia* Schrenk et C.A.Mey. 的干燥草质茎;草麻黄(对照药材,中国食品药品检定研究院,批号:121051-201005);毛果芸香碱[阿法埃莎(中国)化学有限公司,批号:10174117,纯度:99%]。药材来源见表1。

表1 麻黄样品来源信息

Tab 1 Information of *E. herba* samples

编号	产地	基源	采收时间	编号	产地	基源	采收时间
S1	宁夏彭阳	草麻黄	2012/8	S14	陕西蒲城	草麻黄	2012/10
S2	山西右玉	草麻黄	2012/8	S15	内蒙古科尔沁	草麻黄	2012/8
S3	山西大同周土庄镇	草麻黄	2012/8	S16	甘肃庆阳西峰	草麻黄	2012/8
S4	山西天镇	草麻黄	2012/8	S17	甘肃安宁	草麻黄	2012/8
S5	内蒙古赤峰巴林左旗	草麻黄	2012/8	S18	宁夏固原寨科	中麻黄	2012/8
S6	内蒙古鄂托克前旗栽培	草麻黄	2012/10	S19	甘肃崆峒	中麻黄	2012/8
S7	内蒙古鄂托克前旗野生	草麻黄	2012/10	S20	甘肃陇西	中麻黄	2012/8
S8	内蒙古奈曼旗	草麻黄	2012/10	S21	甘肃永昌	中麻黄	2012/8
S9	内蒙古兴安盟	草麻黄	2012/10	S22	甘肃会宁	中麻黄	2012/8
S10	内蒙古翁牛特旗乌兰	草麻黄	2012/10	S23	甘肃武山	中麻黄	2012/8
S11	甘肃古浪	草麻黄	2012/8	S24	甘肃安宁堡	中麻黄	2012/8
S12	新疆和硕曲惠	草麻黄	2012/9	S25	甘肃武威凉州	中麻黄	2012/8
S13	宁夏盐池	草麻黄	2012/8	S26	甘肃秦安	中麻黄	2012/8

### 1.3 动物

清洁级 SD 大鼠,336只,♂,体质量  $200 \pm 20$  g,由宁夏医科大学实验动物中心提供,动物合格证号:SYXK(宁)2011-0001。

## 2 方法

### 2.1 溶液的制备

2.1.1 麻黄供试品溶液 取生麻黄 100 g,加 10 倍量水,浸泡 40 min,用武火煮沸后,改用文火煎煮 30 min,纱布过滤取汁;过滤后残渣再加 8 倍量水,煎煮方法、时间同前,纱布过滤取汁;合并 2 次滤液,浓缩成 1 g(生药)/ml 药液,即为供试品溶液<sup>[4-5]</sup>。

2.1.2 麻黄对照药材溶液 取麻黄对照药材(草麻黄) 100 g,制备方法同麻黄供试品溶液。

2.1.3 毛果芸香碱溶液 精密称取盐酸毛果芸香碱 0.050 0 g,用生理盐水定容至 50 ml 棕色量瓶中,即得质量浓度为 1 mg/ml 的毛果芸香碱溶液。

2.1.4 和田-高原氏溶液 取 2 g 碘溶于 100 ml 无水乙醇中,配成和田-高原氏 A 液;取 50 g 可溶性淀粉溶于 100 ml 蓖麻油中,配成和田-高原氏 B 液。

### 2.2 大鼠分组、给药及发汗模型的制备

取大鼠 336 只,随机分为 56 组(其中 54 组给予麻黄溶液,2 组给予毛果芸香碱溶液),28 组为低剂量组,28 组为高剂量组,每组 6 只。麻黄高、低剂量组大鼠分别 ig 麻黄药材或对照药材溶液 11.25、9 g(生药)/kg,毛果芸香碱高、低剂量组大鼠分别 ig 毛果芸香碱溶液 10.94、8.75 mg/kg(所有高、低剂量组给药剂量之比均为 1:0.8)。实验前大鼠禁食不禁水 8 h,给药 30 min 后,将大鼠仰位固定,用棉签蘸取无水乙醇轻轻拭去大鼠

足后跖污物及汗液,待无水乙醇挥发干燥后,均匀涂上和田-高原氏 A 液,充分干燥后,再涂一层和田-高原氏 B 液,以复制发汗模型。及时观察足跖部紫色着色点的变化,并用微距摄像机拍照记录<sup>[6]</sup>,分别计算麻黄和毛果芸香碱高、低剂量组大鼠足跖部发汗斑点数(发汗量)。

### 2.3 麻黄、毛果芸香碱发汗生物效价的测定

以麻黄对照药材溶液为对照组,不同产地麻黄供试品溶液为供试品组,按“2.2”项下方法分别测定对照组和供试品组大鼠发汗斑点数,平行测定 6 次。根据 2015 年版《中国药典》(四部)生物检定统计法项下“量反应平行线法”的计算原理,定义麻黄对照药材的发汗生物效价为 10 U/g;采用《中国药典》生物检定统计程序 BS2000 计算不同产地麻黄发汗生物效价与可信限率,检验其可靠性<sup>[7]</sup>。本实验不同产地麻黄的发汗生物效价是以麻黄对照药材发汗效价为 10 U/g 测定而得,但麻黄对照药材所含化学成分复杂,为了进一步说明麻黄对大鼠的发汗效价,本实验用麻黄对照药材对发汗化学药毛果芸香碱进行了发汗生物效价的测定。毛果芸香碱发汗生物效价检测方法同麻黄供试品。

### 2.4 不同产地麻黄样品中麻黄碱与伪麻黄碱总含量测定<sup>[8]</sup>

采用高效液相色谱法。色谱柱为 Hypersil ODS2 C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相为乙腈(A)-含 0.1% 磷酸和 0.1% 三乙胺的混合水溶液(B);梯度洗脱(洗脱程序为 0~15 min,98%~95% B;15~20 min,95% B;20~25 min,95%~93% B;25~45 min,93%~91% B;45~90 min,91%~85% B);流速为 1.0 ml/min;检测波长为 210 nm;柱温为 30 ℃;进样量为 10 μl。对含量测定进行方法学考察之后,同时测定不同产地麻黄样品中的麻黄碱与伪麻黄碱含量,两者之和即为麻黄碱与伪麻黄碱总含量。

## 3 结果

### 3.1 麻黄发汗生物效价可靠性检验

26 个不同产地麻黄供试品溶液发汗生物效价检测结果显示,回归项差异均有统计学意义( $P < 0.01$ ),这说明麻黄对照药材溶液或不同产地麻黄供试品溶液的对数剂量与发汗斑点数均呈线性关系;偏离平行均不显著( $P > 0.05$ ),这说明对照药材溶液与供试品溶液的对数剂量与发汗斑点数所形成的回归直线平行。由此可见高、低剂量组 1:0.8 的剂间距比例合理,采用发汗生物效价的方法检测不同产地麻黄质量方法可行。

### 3.2 毛果芸香碱发汗生物效价可靠性检验

毛果芸香碱发汗生物效价检测结果显示,回归项呈显著差异( $P < 0.01$ )、偏离平行不显著( $P > 0.05$ ),这说明毛果芸香碱发汗生物效价可作为麻黄药材的参考。毛果芸香碱的发汗效价为 16.918 U/mg,即 1 g 麻黄对照药材的发汗效价(10 U)相当于 0.591 mg 毛果芸香碱的发汗作用。

### 3.3 麻黄发汗生物效价测定结果

26 份麻黄中有 17 份草麻黄、9 份中麻黄。17 份草麻黄中有 11 份效价高于麻黄对照药材(10 U/g)、3 份与对照药材的发汗生物效价接近、3 份低于对照药材。9 份中麻黄中有 6 份效价高于麻黄对照药材、1 份与对照药材发汗生物效价接近、2 份低于对照药材。26 份不同产地麻黄发汗生物效价达到或超过麻黄对照药材的有 21 份,占 80.76%,其中甘肃古浪草麻黄(S11)发汗生物效价最高(22.09 U/g),其次是山西右玉草麻黄(S2,20.26 U/g),二者发汗生物效价值是麻黄对照药材的 2 倍左右。发汗生物效价在 17.87 U/g 以上的 5 份均为草麻黄,以甘肃武山中麻黄(S23)发汗生物效价最低(7.08 U/g)。草麻黄

的发汗生物效价平均为13.45 U/g,中麻黄平均值为10.78 U/g,草麻黄发汗生物效价均值高于中麻黄。

17份草麻黄中以甘肃古浪草麻黄(S11)发汗生物效价最高,山西大同周土庄镇草麻黄(S3)发汗生物效价最低(7.57 U/g)。9个产地的中麻黄中,发汗生物效价最高的是甘肃武威凉州中麻黄(S25,15.72 U/g),其次是甘肃永昌中麻黄(S21),发汗生物效价为12.56 U/g,以甘肃武山中麻黄(S23)发汗生物效价最低。麻黄发汗生物效价测定结果见表2。

表2 不同产地麻黄发汗生物效价与麻黄碱、伪麻黄碱总含量测定结果

Tab 2 Sweating biological potency value, total contents of ephedrine and pseudoephedrine of *E. herba* from different production areas

编号	效价, U/g	可信限率, %	麻黄碱与伪麻黄碱总含量( $\bar{x} \pm s, n=6$ ), %	编号	效价, U/g	可信限率, %	麻黄碱与伪麻黄碱总含量( $\bar{x} \pm s, n=6$ ), %
S1	17.87	16.27	1.04±0.24	S14	12.51	24.50	0.94±0.40
S2	20.26	19.84	2.47±0.00	S15	15.44	24.37	1.74±0.00
S3	7.57	20.92	1.35±0.17	S16	7.62	7.59	1.03±0.21
S4	18.34	13.59	1.47±0.00	S17	10.24	9.15	0.83±0.68
S5	8.90	15.77	0.97±0.03	S18	9.99	33.25	0.88±0.40
S6	9.55	12.83	1.65±0.32	S19	10.76	11.12	0.64±0.11
S7	18.65	11.22	3.30±1.67	S20	10.71	10.72	1.47±0.15
S8	9.88	7.31	2.29±0.53	S21	12.56	10.32	1.09±0.25
S9	14.29	15.34	2.60±1.13	S22	10.29	34.10	2.33±1.21
S10	13.09	17.93	1.49±0.06	S23	7.08	31.62	2.13±0.87
S11	22.09	29.30	2.41±1.27	S24	7.91	12.94	2.28±0.61
S12	12.68	19.67	3.06±0.28	S25	15.72	14.95	3.08±0.53
S13	9.70	16.84	2.57±1.67	S26	12.00	18.01	1.29±0.19

将17份草麻黄与9份中麻黄分为2个群体绘制发汗生物效价箱型图,见图1。

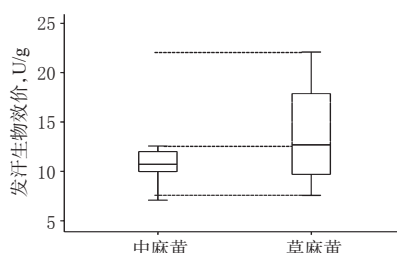


图1 中麻黄与草麻黄发汗生物效价箱型图

Fig 1 Sweating biological potency box plot of *E. herba* and *E. intermedia*

由图1可以看出,草麻黄发汗生物效价整体上要高于中麻黄,草麻黄发汗生物效价下边缘线与中麻黄发汗生物效价下边缘线接近,而中麻黄上边缘线与草麻黄中位数接近,因而草麻黄的发汗生物效价整体上高于中麻黄。但具体到某一产地,中麻黄的发汗生物效价并不一定低于草麻黄,草麻黄发汗生物效价分布范围基本涵盖了中麻黄分布范围,二者箱型图重叠部分较大。

### 3.4 麻黄发汗生物效价与麻黄碱、伪麻黄碱总含量变化趋势分析

3.4.1 麻黄碱、伪麻黄碱含量测定方法学考察结果 按“2.4”项下条件分别测定麻黄碱与伪麻黄碱含量,分别以峰面积( $y$ )为纵坐标、麻黄碱或伪麻黄碱质量浓度( $x$ )为横坐标进行线性回归,结果麻黄碱回归方程为 $y=19.641x+5.9408$ ( $r=0.9998$ ,线性范围为0.004~0.8  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ),伪麻黄碱回归方程为 $y=20.691x+3.5623$ ( $r=0.9999$ ,线性范围为0.008~1.6  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ )。

稳定性考察两者RSD均小于2%( $n=6$ ),重复性考察两者RSD均小于3.29%( $n=6$ ),精密性考察两者RSD均小于3.24%( $n=5$ ),麻黄碱平均加样回收率为91.62%(RSD=2.52%, $n=5$ ),伪麻黄碱平均加样回收率为93.68%(RSD=2.05%, $n=5$ )。以上结果表明该方法可用于麻黄碱和伪麻黄碱含量测定。不同产地麻黄中麻黄碱、伪麻黄碱总含量测定结果见表2。

3.4.2 草麻黄发汗生物效价与麻黄碱及伪麻黄碱总含量变化趋势分析 不同产地草麻黄发汗生物效价与麻黄碱及伪麻黄碱总含量变化趋势图见图2。

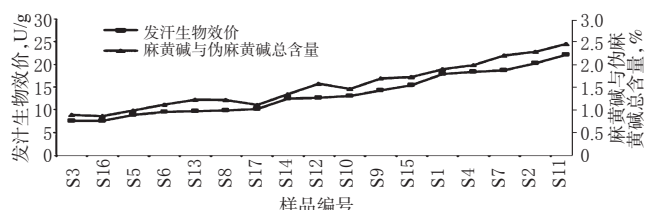


图2 不同产地草麻黄发汗生物效价与麻黄碱及伪麻黄碱总含量变化趋势图

Fig 2 Change trend of total content of ephedrine and pseudoephedrine and sweating biological potency of *E. sinica* from different production areas

结果显示,山西大同周土庄镇麻黄(S3)的麻黄碱及伪麻黄碱总含量与发汗生物效价均最低,甘肃古浪麻黄(S11)的麻黄碱及伪麻黄碱总含量与发汗生物效价均最高。地理位置相近的草麻黄发汗生物效价与麻黄碱及伪麻黄碱总含量并不一定接近,如山西天镇麻黄(S4)与山西大同周庄镇麻黄(S3)均来自山西大同市辖区,但两者麻黄碱及伪麻黄碱总含量与发汗生物效价相差均较大。一般来说草麻黄发汗生物效价的变化趋势与其麻黄碱及伪麻黄碱总含量变化趋势基本一致,即麻黄碱及伪麻黄碱总含量高的草麻黄,发汗生物效价亦高,但二者也并不总是一致,如内蒙古翁牛特旗乌兰麻黄(S10)的麻黄碱及伪麻黄碱总含量低于新疆和硕曲蕙麻黄(S12),而其发汗生物效价却高于新疆和硕曲蕙麻黄(S12)。就某一产地的麻黄而言,麻黄碱及伪麻黄碱总含量高者其发汗生物效价亦高。采自内蒙鄂托克前旗的栽培麻黄(S6)与野生麻黄(S7)来自同一村庄,检测结果表明野生品的发汗生物效价比栽培品高,麻黄碱及伪麻黄碱总含量亦高。因来自同一村庄,自然气候条件相似,均为草麻黄,二者的差别应主要表现在栽培措施上,可见栽培措施能够影响草麻黄的发汗生物效价,亦影响麻黄碱及伪麻黄碱总含量。

3.4.3 中麻黄发汗生物效价与麻黄碱及伪麻黄碱总含量变化趋势分析 不同产地中麻黄发汗生物效价与麻黄碱及伪麻黄碱总含量变化趋势图见图3。

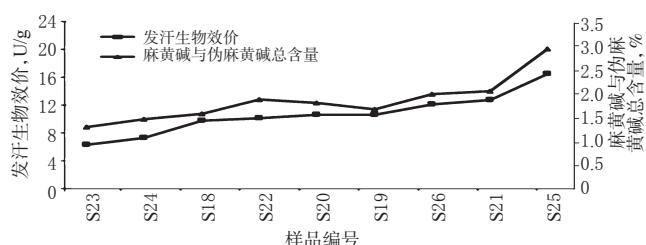


图3 不同产地中麻黄发汗生物效价与麻黄碱及伪麻黄碱总含量变化趋势图

Fig 3 Change trend of total content of ephedrine and pseudoephedrine and sweating biological potency of *E. intermedia* from different production areas

结果显示,甘肃武山麻黄(S23)的麻黄碱及伪麻黄碱总含量与发汗生物效价均最低,甘肃武威凉州区麻黄(S25)的麻黄碱及伪麻黄碱总含量与发汗生物效价最高。地理位置相近的中麻黄发汗生物效价与麻黄碱及伪麻黄碱总含量并不一定接近,如甘肃武山麻黄(S23)与甘肃秦安麻黄(S26)均来自甘肃天水市辖区,但二者麻黄碱及伪麻黄碱总含量不同,发汗生物效价亦不同。中麻黄发汗生物效价的变化趋势与麻黄碱及伪麻黄碱总含量变化趋势基本一致,即麻黄碱及伪麻黄碱总含量高的中麻黄其发汗生物效价一般亦较高;但二者也不完全一致,如甘肃会宁麻黄(S22)的麻黄碱及伪麻黄碱总含量高于甘肃陇西麻黄(S20),但其发汗生物效价却低于甘肃陇西麻黄(S20)。

### 3.5 麻黄发汗生物效价与麻黄碱及伪麻黄碱总含量相关性分析

2015年版《中国药典》(一部)将麻黄碱与伪麻黄碱含量之和作为麻黄质量评价指标性成分,规定麻黄中麻黄碱与伪麻黄碱含量之和不得少于0.80%。将不同产地麻黄发汗生物效价与对应的麻黄碱及伪麻黄碱含量之和进行相关性分析(见表3)。结果表明,麻黄发汗生物效价与麻黄碱及伪麻黄碱总含量之间相关性不显著。其中甘肃古浪草麻黄(S11)中麻黄碱与伪麻黄碱总量为2.41%,发汗生物效价最高,为22.09 U/g;宁夏盐池草麻黄(S13)中麻黄碱与伪麻黄碱含量和为2.57%,比甘肃古浪草麻黄(S11)高0.16%,然而其发汗生物效价却为9.70 U/g,比甘肃古浪草麻黄(S11)发汗生物效价明显要低,仅占甘肃古浪草麻黄(S11)的43.92%。可见麻黄的发汗散寒功效与麻黄碱及伪麻黄碱总含量之间无必然的相关性。

### 3.6 不同产地麻黄发汗生物效价聚类分析

不同产地麻黄发汗生物效价聚类分析结果见图4。

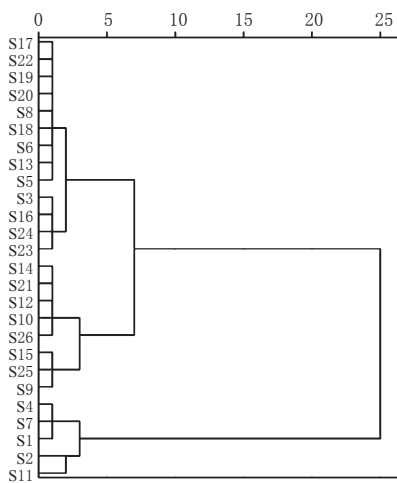


图4 不同产地麻黄发汗生物效价聚类分析图

Fig 4 Cluster analysis dendrogram of sweating biological potency of *E. herba* from different production areas

由图4可见,26个产地麻黄被分为3类,山西右玉、甘肃古浪、山西天镇、宁夏彭阳和内蒙古鄂托克前旗(野生麻黄)5个产地的麻黄被聚为I类,该类全为草麻黄,为发汗生物效价最高的5个麻黄类群,发汗生物效价均在17.87 U/g以上,比麻黄对照药材发汗生物效价高1.79倍以上,因而这5个产地的麻黄发汗药效最为显著。第II类含有8个产地的麻黄,发汗生物效价亦较高,在12.00~15.72 U/g之间,是麻黄对照药材发汗药效的1.20~1.57倍,发汗药效居次。第III类有13个产地的麻黄,发汗生物效价在7.08~10.76 U/g之间,是麻黄对照药材发汗药效的0.71~1.08倍,发汗药效最弱;这类麻黄又可分为2

个亚类,其中大于对照药材发汗生物效价的麻黄有4份,小于对照药材发汗生物效价的麻黄有9份,因而第III类麻黄是发汗药效较差的一类麻黄。在低于对照药材效价的9份麻黄中,发汗生物效价低于8 U/g的有甘肃武山、甘肃安宁堡2个产地的中麻黄(S23、S24),以及甘肃庆阳西峰与山西大同周土庄镇2个产地的草麻黄(S16、S3),这些产地的麻黄发汗生物效价不及对照药材的80%,在麻黄临床用药中可能需增加用量,以提高发汗效果。聚类分析能够将不同发汗效价的麻黄区别开来:26份麻黄药材中有17份麻黄发汗生物效价高于对照药材,占麻黄样品总数的65.38%;有4份麻黄发汗生物效价高于9.55 U/g,与对照药材发汗生物效价相近,占麻黄样品总数的15.38%;二者合计占麻黄样品总数的80.76%。

## 4 讨论

麻黄的发汗生物效价测定有2个技术问题需解决,一是工作参照物,即“和谁比”的问题;二是测定方法,即“如何比”的问题。理想的生物测定用参照物应与供试品是同质的,在一定剂量范围内,参照物可视为供试品不同程度的浓缩物或稀释物,以最大限度地消除测定系统误差,即参照物和供试品的量反应曲线平行,才能进行发汗生物效价的对比和换算<sup>[9]</sup>。为此本实验选择中国食品药品检定研究院提供的麻黄对照药材作为中药质量生物评价与控制用工作参照物,同质性较好,符合传统中医评价麻黄质量多成分、多靶点和整体作用的特点;同时本实验还选用了毛果云香碱作对照,这种类效化学药的参照物同质性较差,但能够为麻黄临床使用制订合理的用药剂量提供参考。

据文献报道,麻黄水煎液或麻黄汤的用量通常为10~15 g(生药)/kg<sup>[10-12]</sup>。本文预实验分别给大鼠ig给药8、9、11.25、12.5 g(生药)/kg,观察大鼠发汗情况,结果8 g(生药)/kg给药剂量组大鼠不发汗,基本无汗点;9、11.25 g(生药)/kg剂量都可以使大鼠发汗,且给药的两组大鼠组间发汗量有显著性差异,符合2015年版《中国药典》(四部)附录XIV量反应平行线(2.2法)对实验相邻高、低剂量组的比值在1:0.8~1:0.5的要求。而给药12.5 g(生药)/kg剂量下,给药30 min后观测,汗点已连成片,无法确定斑点数,因而确定发汗生物效价测定的给药剂量为9、11.25 g(生药)/kg。

麻黄含有多种生物碱、挥发性物质、糖类、矿物质元素等,其中生物碱的量最高,麻黄生物碱中以麻黄碱与伪麻黄碱的量为高<sup>[10-11,13]</sup>,两者也是2015年版《中国药典》(一部)规定的进行质量控制的指标成分。而本实验结果表明,不同产地麻黄发汗效价与麻黄碱及伪麻黄碱总量之间相关性不显著,但在不同产地麻黄中两者变化趋势基本类似,提示麻黄中麻黄碱及伪麻黄碱含量具有发汗作用。但麻黄中可能还含有更强的具有发汗作用的化学物质或麻黄发汗作用是多种成分协同作用的结果,故有必要寻求与麻黄发汗效价相关性更高的活性成分或活性成分群来建立更加完备的麻黄品质评价体系。

## 参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:320-321.
- [2] 中华中医药学会.中华中医药学会第九届中药鉴定学术会议论文集[C]//北京:中华中医药学会,2008:52-55.
- [3] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S]. 2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:183.
- [4] 李姿娇.麻黄中非麻黄碱部分的药效验证及化学成分初步研究[D].北京:北京化工大学,2004.
- [5] 马爱华,张俊慧,陆晓和,等.煎煮时间对麻黄中麻黄碱溶

# 妥洛特罗体内外非特异性抗炎作用研究<sup>△</sup>

傅丽霞<sup>1\*</sup>, 张宇佳<sup>1</sup>, 庄媛媛<sup>1</sup>, 关晶<sup>2</sup>, 王霞<sup>2</sup>, 高蕊<sup>2</sup>, 白金叶<sup>1</sup>, 侯琦<sup>1</sup>, 郑稳生<sup>1</sup>, 林明宝<sup>1#a</sup>, 张建民<sup>2#b</sup> (1. 中国医学科学院药物研究所, 北京 100050; 2. 北京首儿药厂, 北京 101304)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)13-1763-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.13.10

**摘要** 目的: 研究妥洛特罗体内外非特异性抗炎作用。方法: 设立空白对照, 采用MTT比色法观察妥洛特罗对小鼠腹腔原代巨噬细胞增殖的影响, Griess法观察妥洛特罗对脂多糖刺激原代巨噬细胞NO释放的影响, 酶联免疫吸附法观察妥洛特罗对脂多糖刺激原代巨噬细胞中炎症因子TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-17A生成的影响; 同时, 设立模型组, 观察妥洛特罗贴片皮肤局部给药对巴豆油诱导的耳炎模型小鼠耳肿胀度、耳肿胀抑制率的影响和对1% 2,4-二硝基氟苯(DNFB)诱导的迟发型过敏(DTH)模型小鼠耳肿胀度、耳肿胀抑制率、体质量和胸腺、脾脏的脏器质量指数的影响。结果: 与空白对照比较, 妥洛特罗( $1 \times 10^{-4} \sim 1 \times 10^{-3} \mu\text{mol/L}$ )对原代巨噬细胞的增殖(半数抑制浓度为 $13.67 \times 10^{-4} \text{mol/L}$ )、IL-17A的生成无明显影响, 可明显抑制NO的释放(半数抑制浓度为 $5.45 \times 10^{-4} \text{mol/L}$ )和炎症因子TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6的生成( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ )。与模型组比较, 妥洛特罗贴片皮肤局部给药后耳炎模型和DTH模型小鼠的耳肿胀度明显减小( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ )、耳肿胀抑制率增加, 但体质量和胸腺、脾脏的脏器质量指数无明显变化。结论: 妥洛特罗在体内外试验中均表现出一定的抗炎作用。

**关键词** 妥洛特罗; 贴片; 体内; 体外; 巨噬细胞; 小鼠; 抗炎

## Study on the Non-specific Anti-inflammation Effects of Tulobuterol *in vitro* and *in vivo*

FU Lixia<sup>1</sup>, ZHANG Yujia<sup>1</sup>, ZHUANG Yuanyuan<sup>1</sup>, GUAN Jing<sup>2</sup>, WANG Xia<sup>2</sup>, GAO Rui<sup>2</sup>, BAI Jinye<sup>1</sup>, HOU Qi<sup>1</sup>, ZHENG Wensheng<sup>1</sup>, LIN Mingbao<sup>1</sup>, ZHANG Jianmin<sup>2</sup> (1. Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100050, China; 2. Beijing Shou'er Pharmaceutical Factory, Beijing 101304, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study non-specific anti-inflammation effects of tulobuterol *in vitro* and *in vivo*. METHODS: By setting up blank control, MTT colorimetry was used to observe the effects of tulobuterol on the proliferation of primary mice peritoneal macrophages; the effects of tulobuterol on NO release in primary macrophages stimulated with lipopolysaccharide were detected by Griess; the effects of tulobuterol on the generation of inflammatory factors TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 and IL-17A in primary macrophages stimulated with lipopolysaccharide were determined by ELISA. Meanwhile, by setting up model group, the effects of Tulobuterol patch for local use on ear swelling degree and inhibitory rate of ear swelling in soybean oil induced ear inflammation model mice were observed as well as its effects on ear swelling degree, inhibitory rate of ear swelling and body weight, organ mass index of thymus gland and spleen in 1% 2,4-dinitrofluorobenzene (DNFB) induced delayedtype hypersensitivity (DTH) model mice. RESULTS: Compared with blank control, tulobuterol ( $1 \times 10^{-4} \sim 1 \times 10^{-3} \mu\text{mol/L}$ ) had not significant inhibitory effect on the proliferation of primal macrophages ( $\text{IC}_{50} = 13.67 \times 10^{-4} \text{mol/L}$ ) and generation of IL-17A, but significantly inhibited the generation of NO ( $\text{IC}_{50} = 5.45 \times 10^{-4} \text{mol/L}$ ) and inflammatory factors TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-6 ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). Compared with model group, ear swelling degree of ear inflammation model mice and DTH model mice relieved significantly ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ), while inhibitory rate of ear swelling increased and body weight, mass index of thymus gland and spleen had no significant change after receiving Tulobuterol patch for local use. CONCLUSIONS: Tulobuterol shows a certain anti-inflammatory effect *in vitro* and *in vivo*.

**KEYWORDS** Tulobuterol; Patch; *in vivo*; *in vitro*; Macrophages; Mice; Anti-inflammation

- 出率的影响[J]. 中国方剂学杂志, 1995, 1(2): 45
- [6] 李春香, 陈进成, 丁芳, 等. 桂枝与桂枝汤对大鼠发汗作用的比较研究[J]. 中医杂志, 2011, 52(6): 515.
- [7] 李寒冰, 鄢丹, 王伽伯, 等. 基于神经氨酸酶活性检测的板蓝根品质的生物评价[J]. 药学学报, 2009, 44(2): 162.
- [8] 刘秀. 麻黄道地性质量综合评价模型构建研究[D]. 银川:

△ 基金项目: 国家科技重大专项“重大新药创制”十二五项目(No. 2014ZX09507006004); 国家自然科学基金面上项目(No. 81473398)

\* 硕士研究生。研究方向: 抗炎免疫药理学。电话: 010-63165192。E-mail: fulixia23@imm.ac.cn

#a 通信作者: 副研究员, 博士。研究方向: 抗炎免疫药理学。电话: 010-63165192。E-mail: mingbaolin@imm.cams.cn

#b 通信作者: 主任药师。研究方向: 药物制剂工艺。电话: 010-85695699。E-mail: zjm051525@126.com

宁夏医科大学, 2015.

- [9] 黄璐琦, 胡之璧. 中药鉴定新技术新方法及其应用[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010.
- [10] 熊倩, 张密, 郑青山. 麻黄汤不同配伍对大鼠发汗作用的定量评价[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2011, 16(7): 763.
- [11] 刘国清, 罗佳波. 麻黄汤不同配伍对大鼠发汗作用的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2005, 16(5): 318.
- [12] 李春香, 丁芳, 侯小双, 等. 配伍、煎煮及服药时间对麻黄发汗作用的影响[J]. 中医杂志, 2013, 54(13): 1 145.
- [13] 姜寒玉. 麻黄亲缘关系分析及主要药用成分测定研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2006.

(收稿日期: 2015-12-15 修回日期: 2016-03-12)

(编辑: 林静)