

麻黄汤组方原理的研究^{*}

□罗佳波^{**} 余林中 贺 丰 朱全红

(南方医科大学中医药学院 广州 510515)

摘 要:本项目提出关于方剂组方原理的现代假说,从研究麻黄汤不同配伍对物质基础、药理效应、药代动力学变化的影响,进而综合分析该方组方的合理性。体外结果显示不同配伍化学成分有所变化,主要化学成分含量也有差异;发汗及抗炎平喘等药理效应均以全方最佳;其他药味的加入对君药麻黄的减毒作用明显;药代动力学研究表明,臣、佐、使药对君药体内吸收、分布、排泄过程均有影响。体内外研究结果均充分验证了所提之假说的正确性。

关键词:麻黄汤 麻黄 组方原理

麻黄汤组方原理的研究,为国家自然科学基金2001年资助的重点项目。本项目研究,是以中医组方理论为指导,以方剂中君药为重点,以药理效应和效应成分为核心,运用现代实验技术,从体外和体内两个阶段,药理效应、物质基础、药代动力学及其影响因素等方面,揭示各组成药物在麻黄汤中的作用、地位、相互关系。尤其是臣药、佐药、使药对君药的影响,阐明其组方原理,验证我们关于君、臣、佐、使实质与内涵的效应成分组合假说,为临床创制、发展和衍化新方及正确分析和应用现有效方提供依据,也为更广泛开展方剂组成原理研究探索新途径。研究结果及综合分析如下。

第一部分:研究结果

一、麻黄汤拆方分组及各配伍组合煎剂制备

《伤寒论》中麻黄汤组成为:麻黄去节三两(9g)、

桂枝二两(6g)、杏仁去皮尖 70个(6g)、甘草一两(3g)。结合对麻黄汤方剂组成的传统认识,以麻黄为中心,其他药味为因素,采用正交法进行拆方,设计三因素、二水平的正交表进行试验,考虑方中各药味之间的协同作用,形成如下不同配伍组合:①麻黄,②麻黄、桂枝,③麻黄、杏仁,④麻黄、甘草,⑤麻黄、桂枝、杏仁,⑥麻黄、桂枝、甘草,⑦麻黄、杏仁、甘草,⑧麻黄、桂枝、杏仁、甘草

《伤寒论》中煎煮方法为:“上四味,以水九升,先煮麻黄,减二升,去上沫,内诸药,煮取二升半,去滓……”。本项目强调遵从古法,依据《伤寒论》中麻黄汤的比例及煎煮法特点,结合现代研究及临床用药习惯,设定以下煎煮方法:所有配伍组均加水 480mL(相当于麻黄汤全方的 10 倍量),浸泡 30min,麻黄先煎 20min,再和余药共煎 30min,过滤去渣,浓缩至所需浓度。除人体药代动力学研究中所用煎剂未浓缩外,其余的实验研究均参照此法制备。

收稿日期:2007-01-30

修回日期:2007-03-29

* 国家自然科学基金重点项目(30030150):麻黄汤组方规律的研究,负责人:罗佳波。

** 联系人:罗佳波,教授,本刊编委,主要研究方向:中药制剂和剂型改革研究,中药组方原理及配伍规律的研究, Tel: 020-61648266, E-mail: phifur@fimmu.com。

二、麻黄汤及各配伍组合体外化学成分研究

根据目前麻黄汤中单味药和部分配伍组合的研究结果,我们选定以麻黄碱、桂皮醛、苦杏仁苷、甘草酸为代表的主要效应成分为主要研究对象,结合全方、单味药材和不同配伍组,进行定性定量测定。

1. 麻黄汤中化学成分的 GC-MS定性(全方、麻黄、桂枝、杏仁、甘草单味药)及定量分析(麻黄碱、伪麻黄碱、桂皮醛)

用气相色谱-质谱联用法,对传统的麻黄汤全方、麻黄、桂枝、杏仁、甘草的水提液再用醋酸乙酯萃取后的多种成分进行了分析研究。共测得了 50 个总离子流色谱峰,鉴定了 42 个成分。将麻黄汤总离子流色谱峰的面积值与对应的对比药材总离子流色谱峰面积值进行了比较,有 13 个色谱峰在单味中存在而在麻黄汤中未发现;有 8 个色谱峰在麻黄汤中存在,而在各单味药中未发现^[1]。

定量研究结果显示,有一定的规律性:Ⅰ麻黄+桂枝:麻黄碱与伪麻黄碱的煎出量明显减少;Ⅱ麻黄+杏仁:麻黄碱与伪麻黄碱的煎出量明显增多;Ⅲ麻黄+甘草:麻黄碱与伪麻黄碱煎出量基本不变;Ⅳ麻黄与其它三味三三配伍后,麻黄碱与伪麻黄碱的煎出量基本为上述规律的加和,以麻黄+甘草+杏仁三味配伍后的煎出量为最高;Ⅴ.生物碱比例变化:麻黄汤全方与单味麻黄比较,其麻黄碱稍有增多,伪麻黄碱稍有减少^[2]。

通过对含桂枝的 8 个配伍组合煎液中桂皮醛的 GC-MS 分析发现,有麻黄的组合桂皮醛的含量显著降低,说明麻黄的存在影响了桂皮醛的溶出。该结果与桂枝对麻黄碱、伪麻黄碱溶出的影响是一致的,这可能与两者形成了某种复合物有关^[3]。

2. 麻黄汤中化学成分的 HPLC 定量分析(甘草酸、苦杏仁苷)^[3,4]

采用反相高效液相色谱法分别建立了水煎液中甘草酸、苦杏仁苷的含量测定方法,并测定全方及各配伍组中甘草酸及苦杏仁苷的含量。对测定结果进行统计分析。结果显示,只有桂枝+杏仁组合使甘草酸的含

量有所降低,其他组合对其溶出量均无影响,这与含甘草组合对麻黄碱、伪麻黄碱、桂皮醛的含量无影响是一致的。初步认为:使药甘草对君、臣药的主要效应成分的体外溶出量无影响。

甘草与苦杏仁配伍时,甘草可降低汤剂中苦杏仁苷的含量;而桂枝与苦杏仁配伍,对苦杏仁苷几乎没有影响。当麻黄与苦杏仁配伍时,麻黄可增加汤剂中苦杏仁苷的含量。

3. 人体代谢产物的研究

用 GC-MS 法,在服麻黄汤后的人体尿液样品中共检测到 38 个成分,其中 16 个成分在空白尿液中没有检测到,鉴定了其中的 10 个成分。经文献查阅,在尿样和麻黄汤复方中均检测到的成分中,麻黄碱、伪麻黄碱、甲基麻黄碱都具有舒张支气管平滑肌、引起支气管扩张的作用,这些结果说明,上述成分也是麻黄汤复方发挥平喘作用的药效物质基础,也说明了君药麻黄在方中的地位,其余成分可能是复方的代谢产物,也有可能是药效的物质基础^[6]。

实验中发现尿液中的麻黄碱、伪麻黄碱以及甲基麻黄碱的含量与麻黄汤煎液相比都有不同程度的减少,特别是甲基麻黄碱减少的较多,而去甲麻黄碱(NME)与去甲伪麻黄碱(NMP)却有不同程度的升高,推测可能是一部分麻黄碱、伪麻黄碱以及甲基麻黄碱在体内代谢成 NME、NMP,从尿中排出体外。另外,在麻黄汤煎液中有桂皮醛存在,而在尿液没有检测到桂皮醛,说明桂皮醛进入体内后完全被代谢。为了进一步确定麻黄汤发挥药效的真正有效成分,并阐明其药理机理,有必要对这些体内吸收成分进行生物活性深入研究,以期达到初步探讨中药复方研究方法的目的,这也将是我们继续研究的方向^[7]。

三、麻黄汤及各配伍组合主要药理作用及作用机理比较研究

1. 发汗作用及机理探讨

(1)发汗法研究麻黄汤解表作用。

以发汗前后小鼠体重的差异作为发汗量的评价指标,采用析因分析和单因素方差分析观察麻黄汤不同

配伍对小鼠的发汗作用。从单味药的发汗强弱来看,麻黄组 > 桂枝组 > 杏仁组、甘草组,说明麻黄汤中麻黄发汗作用最强。无麻黄或者桂枝的配伍组均无发汗作用,说明麻黄、桂枝在麻黄汤中起发汗作用,并且麻黄配伍桂枝后,发汗作用大大增强,说明桂枝具有协同麻黄发汗的作用,属相须为用^[8,9]。

采用组织形态学方法,以大鼠腋窝部皮肤汗腺的空泡发生百分率作为评价发汗强度的指标,观察麻黄汤不同配伍给药后 30min 对大鼠的发汗作用,统计结果显示:麻黄、桂枝有发汗作用,杏仁、甘草无发汗作用;麻黄发汗作用强于桂枝;麻黄配伍桂枝后,发汗作用大大增强,说明桂枝具有协同麻黄发汗的作用,属相须为用;配伍杏仁后,各配伍组对发汗作用无影响;配伍甘草后,除杏仁甘草组外,其余配伍组发汗作用减弱^[10]。

(2)麻黄汤不同配伍对小鼠耳廓微循环的影响。

观察小鼠灌胃给予麻黄汤不同配伍后,小鼠耳廓微循环细血管动、静脉管径和血流速度的变化。研究麻黄汤不同配伍对血管的影响,了解麻黄汤发汗的生理基础。实验结果表明,麻黄汤可扩张小鼠耳廓动脉和静脉,加快血液流速,增加皮肤血流量。单味麻黄具有收缩小鼠耳廓动脉和静脉的作用,配伍杏仁后各配伍组的耳廓微循环没有明显变化;配伍甘草后对细动脉和静脉无明显影响,可增加血液流速。从发汗的角度来看,麻黄汤促进发汗的生理基础可能在于其增加皮肤血流量。方中桂枝具有协同麻黄发汗的作用,一方面桂枝扩张血管,改善麻黄的缩血管作用,另一方面二者均加快血液流速,增加皮肤血容量,使有汗可发^[11]。

2 抗炎作用及作用机理探讨

(1)麻黄汤拆方对过敏性炎症的抑制作用。

采用整体试验观察致敏小鼠抗原攻击后肺灌洗液和周围血中的嗜酸性粒细胞聚集反应,采用离体试验观察致敏大鼠抗原攻击后腹腔肥大细胞脱颗粒反应。观察了麻黄汤及其不同配伍对小鼠嗜酸性细胞聚集反应和大鼠肥大细胞脱颗粒反应的影响。结果显示:麻黄汤全方在对嗜酸性粒细胞和肥大细胞的抑制作用方

面明显高于其拆方组合,并且有麻黄、桂枝的组合对嗜酸性粒细胞和肥大细胞的抑制作用要强于其它组,初步验证麻黄汤中麻黄、桂枝作为君、臣的合理性,但是麻黄汤全方和有麻黄、桂枝的配伍组间的抑制作用没有显著差异^[12]。

(2)麻黄汤及拆方对中性粒细胞趋化和释放白三烯的影响。

通过观察麻黄汤拆方对脂多糖 (LPS)刺激下中性粒细胞趋化活性和释放白三烯 (LTB₄)的影响,旨在在细胞水平上从抗炎的角度来探讨麻黄汤组方的合理性和配伍规律。统计结果表明:在对中性粒细胞趋化和中性粒细胞分泌白三烯的抑制作用方面,以麻黄汤全方为优。有麻黄、桂枝的组合中性粒细胞趋化和中性粒细胞分泌白三烯的抑制作用要强于其它组^[13]。

(3)麻黄汤抗炎作用的其他研究。

醋酸致小鼠毛细血管通透性增加的影响:本实验以阿司匹林为对照药,麻黄汤和阿司匹林对醋酸致小鼠毛细血管通透性均有抑制作用,二者比较无显著性差异^[14]。

二甲苯引起小鼠耳肿胀的影响:实验结果表明,涂抹二甲苯后模型组小鼠耳朵肿胀明显,给予麻黄汤的各剂量组和阿司匹林组可以显著抑制二甲苯所导致的小鼠炎性肿胀^[15]。

3 对毒副反应的影响

(1)对中枢氨基酸神经递质含量的影响—减毒副作用^[16-17]。据文献报道,麻黄对中枢神经系统的影响可能与兴奋性谷氨酸的过量释放有关,研究麻黄汤对大鼠额叶兴奋性和抑制性氨基酸类神经递质含量的影响,分析其量效、时效关系,以配伍对氨基酸类神经递质含量的影响为切入点,从减轻毒副作用层面研究麻黄汤的组方意义。采用反相高效液相色谱法测定大鼠额叶氨基酸类神经递质谷氨酸、天冬氨酸、γ-氨基丁酸、甘氨酸含量。采用 SPSS10.0 中的正交分析对数据进行分析处理,得到桂枝、杏仁、甘草对氨基酸神经递质含量影响的综合评价如下:

①麻黄配伍桂枝后,拮抗麻黄升高氨基酸类神经递质含量的作用,并协调麻黄对谷氨酸/γ-氨基丁酸

比例的改变,提示臣药桂枝在氨基酸类神经递质的改变这一层面上具降低麻黄副作用的效果。

②杏仁亦显著降低了谷氨酸、甘氨酸的含量及谷氨酸/ γ -氨基丁酸比值。同时协同桂枝降低了谷氨酸含量,但在降低甘氨酸、 γ -氨基丁酸含量时体现出抑制桂枝的降低作用。

(2)甘草虽对兴奋性氨基酸含量的影响不显著,但显著升高甘氨酸的含量,降低谷氨酸/ γ -氨基丁酸比值,且呈现出抑制桂枝降低抑制性氨基酸的效能,提示甘草在麻黄汤的配伍中确实发挥了调和的功效。

四、从君药主要指标成分在体内药代动力学的层面研究麻黄汤组方规律

1. 麻黄汤不同配伍对麻黄碱和伪麻黄碱在健康人体药代动力学的影响^[18~21]

用血药浓度法,借助 GC-MS 手段,以麻黄汤中君药麻黄所含效应成分麻黄碱和伪麻黄碱为对象,研究不同配伍对二者在健康人体药代动力学过程的影响。采用国际标准 PK/PD 软件 WinNonLin 4.01 处理,经拟合,所有配伍药时曲线符合一房室开放模型,模型符合度均达到 0.9 以上。求算药动学参数,并用统计学软件 SPSS10.0,按正交设计资料的方差分析法,对主要药动学参数 K_{01} 、 K_{10} 、AUC、 C_{max} 、 T_{max} 、 $t_{1/2}$ 、V、CL 等进行统计分析。综合统计结果,得出以下结果:

(1) 臣药桂枝对君药的影响。

①对麻黄碱药代动力学影响。统计结果显示在 0.05 水平下(后同),桂枝的加入对麻黄碱的大部分参数如 K_{01} 、 K_{10} 、 $T_{1/2}$ 、 T_{max} 、CL 都未见显著性影响,但是对 V 值有显著降低,对 C_{max} 、AUC 有显著提高。说明桂枝对麻黄碱的吸收和消除快慢没有显著影响,但是可以促进人体对麻黄碱的吸收利用程度,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,对防止、降低麻黄碱的毒效也有一定意义。

②对伪麻黄碱药代动力学影响。桂枝的加入显著性提高伪麻黄碱的 K_{01} 、 C_{max} 、AUC,极显著降低 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。

(2) 佐药杏仁对君药的影响。

①对麻黄碱药代动力学影响。杏仁的加入对麻黄碱的大部分参数有影响:杏仁显著降低 K_{01} 值,显著增加 T_{max} 值,极显著提高 C_{max} 、AUC 值,极显著降低 V、CL 值,仅对少数参数如 K_{10} 、 $T_{1/2}$ 未见显著影响。说明杏仁延缓麻黄碱的吸收,促进人体对麻黄碱的吸收利用程度,有利于减少麻黄碱体内蓄积。统计结果还显示,杏仁对麻黄碱的消除速率未见显著影响。

②对伪麻黄碱药代动力学影响。杏仁的加入极显著提高伪麻黄碱 C_{max} 、AUC 值,极显著降低 V、CL,对其他参数没有显著影响。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。

(3) 使药甘草对君药的影响。

①对麻黄碱药代动力学影响。甘草的加入能显著增大麻黄碱的 K_{01} 、CL 值,极显著降低麻黄碱的 T_{max} 值,显著降低麻黄碱 AUC 值,对其他参数没有显著影响。甘草的加入加速了麻黄碱的吸收,降低进入人体的麻黄碱的药量,并促进药物从机体清除。

②对伪麻黄碱药代动力学影响。甘草的加入极显著提高伪麻黄碱的 K_{01} 、 K_{10} 、 C_{max} ,显著降低其 $T_{1/2}$ 、 T_{max} 、V,对 AUC、CL 未见影响。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) 交互作用。

桂枝与杏仁在方中主要是协同作用;麻黄与桂枝、麻黄与杏仁、桂枝与甘草、杏仁与甘草之间既有协同又有拮抗;使药甘草通过与其他诸药或协同或拮抗的作用,体现其调和诸药的功效。

①对麻黄碱药代动力学影响:桂枝与杏仁协同降低麻黄碱 K_{01} 值。麻黄碱主要通过兴奋肾上腺受体发挥药理作用,生理活性强,吸收太快,药效和毒效都可能过于明显,不利于控制。适当延缓吸收,有利于避免

过激的药效和不良反应。

对麻黄碱 K_{01} 、 K_{10} 、 $T_{1/2}$ 、 V 等参数,杏仁和甘草分别与麻黄共用未见显著影响,但是杏仁甘草配伍之后,统计结果显示二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、甘草三药伍用能显著提高麻黄碱在人体内的 C_{max} 、AUC 值,显著减小麻黄碱 V 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。

②对伪麻黄碱药代动力学影响:桂枝和杏仁协同提高 C_{max} 、AUC,共同促进人体对伪麻黄碱的吸收利用。

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。

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。这样的现象提示甘草在方中作为使药,具有双向调节作用。本身具有正相作用,又避免合用之后出现矫枉过正。

2 配伍对麻黄碱、伪麻黄碱于小鼠脏器组织动力学的影响^[22]

借助 GC-MS 手段,以麻黄汤中君药麻黄所含效应成分麻黄碱和伪麻黄碱为对象,研究不同配伍对二者在小鼠脑、肺、心、肝、肾等脏器内药代动力学过程的影响。

测定各样品匀浆液中的麻黄碱和伪麻黄碱的含量,按照不同组织、不同配伍,分别绘制药时曲线。采用 WinNonLin 4.01,对组织中麻黄碱、伪麻黄碱的浓度数据进行非房室模型拟合、求算药动学参数,其中 AUC 采用梯形面积法计算, C_{max} 、 T_{max} 采用三点抛物线拟合计算,并用统计学软件 SPSS10.0,按正交设计资

料的方差分析法,对主要药动学参数 AUC, C_{max} , T_{max} , $T_{1/2}$, MRT, CL 等进行统计分析。根据统计结果,以方中诸药对君药的影响总结如下。

(1) 桂枝。

在 0.05 水平下,桂枝显著降低了麻黄碱在脑组织的累积分布量 (AUC),而对麻黄碱在肺脏、心脏、肝脏、肾脏 AUC 的影响不显著;说明桂枝在麻黄碱于脑组织 AUC 的影响并非单纯受配伍引起的麻黄碱溶出量影响而造成的 AUC 降低,可能是桂枝在机体内发挥了抑制麻黄碱到脑组织分布作用的功能;而桂枝对麻黄碱在所分析脏器的 T_{max} 、 C_{max} 、MRT、CL 动力学参数的影响不显著。桂枝对伪麻黄碱在所分析组织及参数的影响均不显著。提示桂枝对麻黄碱、伪麻黄碱异构体的影响不完全一致。

(2) 杏仁。

在 0.05 水平下,杏仁显著降低了麻黄碱于脑、肝脏组织的 AUC,而对在其他组织 AUC 的影响不显著。杏仁对伪麻黄碱在所分析脏器 AUC 的影响均不显著。同时杏仁显著降低了麻黄碱、伪麻黄碱在肝脏组织的 T_{max} ,提示杏仁能加快麻黄碱、伪麻黄碱的代谢,显著提高伪麻黄碱在肾脏组织的 C_{max} ,而对麻黄碱、伪麻黄碱在其他脏器 T_{max} 、 C_{max} 的影响不显著。杏仁对麻黄碱、伪麻黄碱在所分析脏器 $t_{1/2}$ 、MRT、CL 的影响不具显著性差别。

(3) 甘草。

在 0.05 水平下,甘草显著升高麻黄碱脑组织 AUC,而显著降低了麻黄碱于肝脏组织的 AUC。对伪麻黄碱于所分析脏器 AUC 的影响均不显著。对麻黄碱、伪麻黄碱在所分析脏器的 T_{max} 、 C_{max} 、 $T_{1/2}$ 、MRT、CL 的影响不显著。

(4) 交互作用。

在 0.05 水平下,桂枝与杏仁协同降低了麻黄碱在脑组织 AUC 的作用,但甘草虽能增加麻黄碱在脑组织的分布量,并抑制桂枝的作用,但未改变桂枝降低麻黄碱脑组织分布量的作用,而与之呈现显著降低的一级交互作用。

在排除剂量的影响下,杏仁显著抑制桂枝的作用

而使伪麻黄碱在肾脏组织的 $C_{\max}$ 显著升高;杏仁与甘草的交互作用对伪麻黄碱在肾脏组织 $C_{\max}$ 的影响不显著;甘草抑制了桂枝降低伪麻黄碱在肾脏 $C_{\max}$ 的作用,而使两者呈现显著降低的一级交互作用。杏仁与甘草在降低麻黄碱、伪麻黄碱在肝脏组织 $T_{\max}$ 上具有显著的协同作用,提示两者能协同加快麻黄碱、伪麻黄碱的代谢。

(5) 配伍对麻黄碱、伪麻黄碱影响不一致性。

结果表明,桂枝、杏仁、甘草对麻黄碱、伪麻黄碱体内外的影响不完全一致。体外溶出量结果的差异,可能是配伍组中其他成分对为立体异构体的麻黄碱、伪麻黄碱影响差异所致;体内各脏器组织动力学参数的不一致,可能是结构的差异导致了两者与组织分子或受体的亲和力不同,及其他成分对两者与受体结合位点竞争的差异所致。结合两者药理活性的不同,提示配伍对麻黄碱、伪麻黄碱的影响受制于两者的结构-性质特点。

(6) 产生多峰现象的原因。

麻黄碱和伪麻黄碱组织中双峰或多峰(血清中两者的药时过亦出现多峰或双峰现象,本实验室以前的研究结果)的原因,其一可能是胃肠道吸收的非齐性,即配伍组中麻黄碱和伪麻黄碱在胃肠道的不同部位有多个吸收位点,但由于不同位点腔道内膜对两者的通透性不同,所以当口服配伍汤液后导致不同部位的吸收时间和吸收速率并不一致,导致在不同的组织中的多次分布,从而出现组织中药时曲线的多峰现象;另一可能的原因是肠-肝循环,麻黄碱和伪麻黄碱在胃肠道吸收后,经门静脉进入肝脏,随后再分泌入胆汁,一部分在胆囊蓄积。当胆囊收缩时,这部分麻黄碱和伪麻黄碱就由胆总管快速释放再次进入肠道被重吸收,形成肠肝循环,导致两者于不同组织中的再次分布,从而组织中再次出现药峰现象。

第二部分:研究结果总结与综合分析

中医药学家在对数千年的用药实践进行归纳、总结的基础上形成了方剂组成原则的传统理论,这一组方原理被归纳为“君、臣、佐、使”。麻黄汤是代表方剂

基本配伍原则的典型方剂,方中四味药各司其职,作用分明,分别发挥君、臣、佐、使药的作用,因此对该方配伍规律研究具有代表性和示范性。

现代相关学科研究结果充分说明,方剂组方原理研究的核心内容和关键环节,在于对方中各药(或药组)的地位、作用及药效物质基础运动、变化的揭示。据此,我们以君药为重点、药理效应及效应成分为核心,曾提出阐释方剂君、臣、佐、使实质与内涵的新假说,认为:①方剂的君、臣、佐、使实质在于各药效应成分的合理组合,每首方剂均可分为主治(主要为君药所含)和辅治(主要为臣、佐、使药所含)两大效应成分群;②前者针对主病或主证起主要治疗作用,后者通过对前者治疗效应的协同、不良反应的拮抗或直接治疗兼证(或次要症状)而起辅助治疗作用;③两者可能在制剂过程(物理化学的)和/或体内过程(药效学的和药动学的)中相互影响,使全方对其主治证产生较佳综合治疗效应。并在此基础上提出了新的研究思路与方法,即:①以传统方剂组方原则为指导,以方剂功用、主治为依据,以君药为重点,以药理效应及效应成分为核心;②注重将中医药理论与现代医药理论相结合,化学成分分析与药理效应观察相结合;③从体外、体内两个阶段,药理效应、效应成分、生物利用度、药代动力学等方面,探讨组成药物在方剂中的作用、地位和相互配位关系,阐明方剂的组方原理和科学内涵。以此思路指导体内、外实验、化学成分分析、药理药效研究及药代动力学研究,得到了大量翔实的实验结果,可以从多角度以科学的方式再次阐释“君臣佐使”各药在方中的地位和作用,以及“七情合和”这一方剂配伍规律的重要内涵。

一、君臣佐使诸药在方中的地位和作用

1. 君药麻黄

(1)麻黄单味药的发汗作用明显强于其他单味药,并且能显著加快小鼠耳廓血流速度,增加皮肤血流量,从而使小鼠有汗可发,说明麻黄汤在针对太阳伤寒表实证时以其为君药,体现发汗解表的治法。同时,该结果也与麻黄碱的血管药理作用一致,提示麻黄碱是

麻黄发汗作用的有效物质。

(2)在平喘研究中,单味麻黄可以明显改善组胺和氯化乙酰胆碱所致豚鼠哮喘,在离体器官、细胞及分子三个水平的相关实验中,亦体现了君药麻黄的突出作用,而且麻黄与方中其他药味尤其杏仁合用之后药理作用更加明显。

以上结果说明麻黄在麻黄汤中具有发汗解表、宣肺平喘两大主要功效,在方中起主导地位,发挥了君药的作用。

2 臣药桂枝药效实验结果

(1)发汗研究中,桂枝有明显的发汗作用,但其作用强度弱于麻黄,并且麻黄配伍桂枝后,发汗作用大大增强;桂枝不仅有加快小鼠耳廓血流速度的作用,还能扩张动静脉,缓解麻黄的缩血管作用。这一结果也印证了“麻黄无桂枝不汗”。另外,该结果也与桂皮醛的药理作用一致,提示桂皮醛是桂枝药理作用的有效物质。

(2)在与平喘相关的细胞、分子水平实验中,有麻黄、桂枝的组合平喘作用明显强于其他组。

(3)体外的化学成分研究结果显示,桂枝与麻黄配伍,不仅麻黄碱和伪麻黄碱的煎出量明显减少,桂皮醛的煎出量亦明显降低。中外文献有载过量麻黄碱可能引起明显毒副作用,且古法煎煮麻黄时有“去沫”、“麻黄陈用为好”之说,均是为了除去过量的麻黄碱。因此,麻黄碱与伪麻黄碱的煎出量减少,可能与减轻麻黄之毒副作用有关。

(4)药物动力学研究结果显示,桂枝可加快伪麻黄碱的吸收,促进人体对伪麻黄碱和麻黄碱的吸收利用程度,降低伪麻黄碱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,提示桂枝与麻黄减毒增效的配伍关系。桂枝还能降低麻黄碱在小鼠脑组织的分布量,也提示桂枝与麻黄配伍的减毒作用。

(5)麻黄配伍桂枝后能拮抗麻黄升高氨基酸类神经递质含量的作用,并协调麻黄对谷氨酸 γ -氨基丁酸比例的改变,提示臣药桂枝在氨基酸类神经递质的改变这一层面上具降低麻黄副作用的效果。

传统认为,麻黄汤中的桂枝主要起“温经散寒,透

营达卫助麻黄发汗解表作用,以上研究结果表明,桂枝不仅助麻黄发汗解表,还能直接或间接助麻黄平喘;另外,还通过体外影响麻黄生物碱煎出量,体内影响麻黄生物碱的药动学参数,起到降低麻黄毒副作用的效果。提示桂枝既助君药麻黄发汗、平喘,作为臣用,亦能减轻君药毒性或峻烈之性,而具佐制之意。

3 佐药杏仁药效实验结果

(1)化学成分:杏仁在体外可增加麻黄碱和伪麻黄碱的煎出量。

(2)药理效应:以往的研究认为苦杏仁的止咳平喘作用即由苦杏仁苷酶解产生的氢氰酸,轻度抑制呼吸中枢,使呼吸运动趋于安静而产生。本研究中有杏仁的组合对豚鼠离体支气管平滑肌显示了较强的解痉作用,但是抗炎平喘分子水平研究中未发现杏仁有明显药理效应,杏仁也没有明显发汗作用。

(3)药代动力学:在体内提高麻黄碱和伪麻黄碱在人体的 C_{max} 、AUC,降低 V_d 、 CL 外,对麻黄碱的吸收还有延缓作用。杏仁影响与药效相关的参数,提示其协助君药麻黄加强治疗作用。

(4)杏仁亦显著降低了谷氨酸、甘氨酸的含量及谷氨酸 γ -氨基丁酸比值。同时协同桂枝降低了谷氨酸含量,但在降低甘氨酸、 γ -氨基丁酸含量时体现出抑制桂枝的降低作用,使交互作用的效果介于两者单独作用的效能之间。杏仁影响主要不良反映来源物质麻黄碱的吸收速率,显著降低了麻黄碱于小鼠脑、肝脏组织的AUC;降低了麻黄碱、伪麻黄碱于肝脏组织的 T_{max} ,提示杏仁能加快麻黄碱、伪麻黄碱的代谢,显著提高伪麻黄碱于肾脏组织的 C_{max} 。

以上结果都提示杏仁在麻黄汤中,既能加强麻黄平喘而发挥佐助之效,亦能减轻麻黄峻烈之性,行佐制之功。此外,化学成分、药理效应和药代动力学体现了杏仁在麻黄汤中的佐助效应。

4 使药甘草药效实验结果

(1)甘草单味药没有明显的发汗或平喘等药理作用,体外对麻黄碱、伪麻黄碱、桂皮醛的含量没有明显影响,但是可以降低苦杏仁苷含量。甘草虽对兴奋性氨基酸含量的影响不显著,但显著升高甘氨酸的含量,

降低谷氨酸/ γ -氨基丁酸比值,且呈现出抑制桂枝降低抑制性氨基酸的效能。

(2)使药甘草对于麻黄碱和伪麻黄碱人体药代动力学的参数影响主要是速率方面,加快吸收,加快消除。对于臣、佐药都显著提高的麻黄碱 AUC 值,甘草则降低该值,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。更有,甘草和桂枝、杏仁一样可以提高伪麻黄碱 C_{max} 值、降低 V 值,但是甘草配伍桂枝或杏仁之后都表现 C_{max} 上升幅度减小, V 下降幅度减小。甘草显著降低了麻黄碱于小鼠肝脏组织的 AUC,提示甘草的减毒功效。

以上结果提示,使药甘草在方中的确实发挥了“调和”的功效,使其他药物的功效发挥作用以增加疗效,避免引发不良反应。

二、七情合和

“七情合和”既是中药合理配伍的实质,也是方剂组成的重要内涵和特征。麻黄汤中各药物组合中化学成分、药效代谢等变化均显出这一规律。

1. 化学成分的“合和”变化

以麻黄碱、桂皮醛、苦杏仁苷、甘草酸为代表的麻黄汤中各药物主要成分在传统煎煮条件下与单味药比较有明显的量增减变化,并呈现一定规律性。复方中发现有别于单味药的 8 个新色谱峰,而存在于各单味药中的 13 个色谱峰在复方中消失。表明该方各药物配伍后,其化学组分既有量的增减,且表现出君、臣、佐、使药的“七情合和”配伍关系,又可能有新的化合物出现,使复方产生新的效应。可以推论,中药复方配伍不仅是药物各组分量的组合,也存在着质的变化。

2 药理效应的“合和”变化

从发汗、解热、平喘、抗炎、影响脑内氨基酸类神经递质等药理作用结果分析,显示出麻黄汤全方较各单味药及其他配伍组作用增强,也有不同于各单味药的效应。麻黄桂枝既相须,协同共奏发汗、抗炎平喘之效,又有桂枝拮抗麻黄某些副作用;杏仁协同麻黄平喘

作用等等,都体现了药物配伍“七情合和”的关系,相辅相成或相反相成,增强效应,减少副作用。这与配伍后化学成分“合和”变化密切相关,提示化学成分“合和”是复方药理效应的物质基础。

3 药物代谢的“合和”变化

通过观察、比较不同配伍组对君药麻黄中效应成分的药代动力学及生物利用度参数的影响,研究结果显示桂枝与杏仁之间的协同作用;而麻黄与桂枝、麻黄与杏仁、桂枝与甘草、杏仁与甘草既有协同又有拮抗,各组分相互作用,促进对效应成分的吸收利用、代谢排泄,既提高生物利用度,又防止其在机体蓄积。

中药“七情”是方剂配伍规律的重要内涵,而我们提出的“七情合和”新观点,能够充分表示方剂配伍规律中药物相互作用的基本特征。从麻黄汤的研究结果可以看出,“七情合和”体现在化学成分、药物代谢、药理效应等方面。“七情合和”既有量变,也有质变,是药物成分、药效的有机组合。

第三部分:本项目研究结果的意义

本项目以经方麻黄汤为研究对象,以君药麻黄为重点,以药理效应和效应成分为核心,从药效、效应成分、生物利用度、药代动力学等方面,揭示各药在方中的作用、地位和相互关系,大体上与传统中医药理论相吻合,对传统的组方理论在现代科学层面给予了进一步的阐明。

历代中医古籍均认为,麻黄汤中臣药桂枝在方中协助君药发汗解表,但对桂枝是否有协助君药平喘及制约君药毒性作用未有记载。本研究发现,桂枝不仅协助君药发汗作用,还能直接或间接助麻黄平喘,亦能减轻君药毒性或峻烈之性,而具佐制之意。

项目的研究结果有力地支持了标书中所提的假说,在一定程度上证实:方剂君、臣、佐、使的实质在于各效应成分的合理组合;主治效应成分对主病或主证起主要治疗作用,辅治效应成分通过对前者治疗效应的协同、不良反应的拮抗以及直接治疗兼证或次要症状而起辅助治疗作用;两者在体外过程通过物理化学作用、在体内过程中通过药效和药动学作用表现出有

规律的相互影响,最终使全方对主治证产生最佳的综合治疗效应。

通过对经方麻黄汤的研究,进一步验证了我们采用的方剂组成原理研究思路与方法的科学性和可行性,为在更大范围内开展方剂组成规律的现代研究提出可供推广、示范的模式。

参考文献

- 1 罗佳波,李吉来,陈飞龙,等.麻黄汤中化学成分 GC-MS 分析.中国实验方剂学杂志,2001,(01) 3~5.
- 2 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,2002,4 21~23.
- 3 魏凤环,罗佳波,陈飞龙,等.配伍及煎煮方法对麻黄汤中桂皮醛含量的影响.中药材,2003,(09) 51~53.
- 4 吴昭晖,罗佳波,谭晓梅.配伍对麻黄汤中甘草 HPLC 指纹图谱的影响.中国中药杂志,2006,(03) 35~38.
- 5 吴昭晖,罗佳波,胡晓添.HPLC 法研究配伍对麻黄汤中苦杏仁苷含量的影响.中草药,2004,(03) 35~37.
- 6 朱全红,陈燕,陈飞龙,人体服用麻黄汤后尿中挥发性成分的分析.药物分析杂志,2005,25(11) 1350~.
- 7 朱全红,陈飞龙,白霜,GC-MS 法测定尿液中麻黄汤代谢产物麻黄类生物碱的浓度.药物分析杂志,2005,25(9) 1030~.
- 8 罗佳波,刘国清,莫志贤,等.麻黄汤对小鼠的发汗作用.中医药学刊,2005,(11) 19~20.
- 9 刘国清,罗佳波.麻黄汤不同配伍对大鼠发汗作用的影响.中药新药与临床药理,2005,(05) 7~9.
- 10 刘国清,余林中,莫志贤,等.发汗实验方法研究.中药药理与临床,2005,21(04) 54~64.
- 11 刘国清,陈育尧,莫志贤,等.麻黄汤对小鼠耳廓微循环的影响.中华实用中西医杂志,2005,18(10) 792~793.
- 12 刘永刚,罗佳波,吴忠,等.麻黄汤拆方对过敏性鼻炎的抑制作用.中草药,2005,(04) 88~91.
- 13 刘永刚,罗佳波,贺丰.麻黄汤及拆方对中性粒细胞趋化和释放白三烯的影响.中国中药杂志,2005,(11) 50~6.
- 14 刘永刚,罗佳波,贺丰.麻黄汤及拆方抗炎作用的研究.中药材,2005,(05) 55~57.
- 15 刘永刚,罗佳波,蒋毅萍.麻黄汤的急毒及抗炎、抗过敏作用研究.中成药,2005,(03) 101~102.
- 16 魏凤环,罗佳波,余林中.麻黄汤不同配伍对大鼠大脑皮层额叶天冬氨酸含量的影响.中药药理与临床,2006,(01) 3~4.
- 17 魏凤环,罗佳波,谭晓梅,等.麻黄汤对大鼠大脑额叶皮层氨基酸类神经递质水平的影响.中草药,2005,(12) 85~88.
- 18 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.中药药理与临床,2005,(01) 3~5.
- 19 贺丰,罗佳波.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.中国中药杂志,2005,(18) 52~65.
- 20 贺丰,罗佳波,陈飞龙,等.GC-MS 法研究麻黄汤中麻黄碱、伪麻黄碱的人体内过程.中药新药与临床药理,2004,(05) 38~40,49.
- 21 贺丰,罗佳波.麻黄汤中臣、佐、使药对君药中麻黄碱的人体内过程的影响.中草药,2005,(09) 37~40.
- 22 魏凤环,罗佳波,沈群,等.麻黄汤及单味麻黄中麻黄碱与伪麻黄碱在小鼠组织中的药动学研究.中草药,2004,(07) 56~69.

A Composition Scenario for Ma - Huang Decoction

Luo Jiabo, Yu Linzhong, He Feng, Zhu Quanhong

(Institute of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515)

Here authors proposed a modern composition scenario for making a prescription. They looked into different Ma - Huang decoctions (MHD) in terms of their chemical compositions, pharmacological effects, and pharmacokinetic variations, and analyzed the rationality behind the prescriptions. In vitro experiments showed that chemical compositions and concentration of the key chemical compositions are differed for the prescriptions with different matching ingredients. They also revealed that the decoction is of a best pharmaceutical effect on diaphoresis, inflammation, and asthma. The toxicity of Ephedra herb can be noticeably reduced, when some other herbs are added. Pharmacokinetic analysis showed that other herbs in MHD have a moderate effect on the absorption, disposition, and metabolic process of the key element Ephedra. The results strongly indicate that the scenario is rationally established.

Keywords: Ma - Huang Decoction, Ephedra herb, composition principle

(责任编辑:王 瑀,责任编审:张志华,责任译审:邹春申)