

# UHPLC-QTOF-MS<sup>E</sup>与UHPLC-MS/MS分析麻黄生物碱在 血脑屏障间的移行及脑区分布特征

彭 秘, 苏 丹\*, 李晗芸, 冯冰薇, 徐鹏飞, 宋永贵\*

(江西中医药大学, 江西 南昌 330006)

**摘要:** 利用超高效液相色谱-质谱 (UHPLC-MS) 联用技术, 建立麻黄生物碱同分异构体的 UHPLC 分离方法, 定性分析麻黄生物碱移行入血与入脑成分, 定量测定并比较麻黄生物碱在血脑屏障间的分布情况, 并获得在大鼠中枢神经系统不同部位 (大脑皮层、小脑、海马、纹状体、延髓和下丘脑) 的分布特征与差异。研究表明, 麻黄碱、伪麻黄碱、去甲基麻黄碱、去甲基伪麻黄碱和甲基麻黄碱 (甲基伪麻黄碱) 经胃肠吸收后可通过血脑屏障快速入脑, 定量测定结果显示, 麻黄生物碱主要分布在大脑皮层、海马区域, 其次为下丘脑、纹状体与小脑, 最少分布在延髓部位。不同生物碱的血脑屏障分布情况: 以  $AUC_{0-t, \text{brain}}/AUC_{0-t, \text{blood}}$  计, 麻黄碱类 > 甲基麻黄碱类 > 去甲基麻黄碱类。麻黄生物碱能够在血脑屏障间快速分布, 在中枢系统分布具有组织趋向性, 不同生物碱的血脑分布情况具有差异性。本文为中药麻黄的中枢作用机制研究提供了物质效应部位与依据。

**关键词:** 麻黄; 生物碱; 中枢系统; UHPLC-QTOF-MS<sup>E</sup>; UHPLC-MS/MS

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2017) 09-1437-07

## Study of brain distribution of Ephedra alkaloids based on UHPLC-QTOF-MS<sup>E</sup> and UHPLC-MS/MS method

PENG Mi, SU Dan\*, LI Han-yun, FENG Bing-wei, XU Peng-fei, SONG Yong-gui\*

(Jiangxi University of traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006, China)

**Abstract:** Using ultra high performance liquid chromatography (UHPLC) coupled with mass spectrum (MS) technology, a method has been established for separation and analysis of alkaloid isomers. Alkaloids in *Ephedra sinica* transitionally crossed blood brain barrier (BBB) and the distribution were investigated. The concentrations of *Ephedra* alkaloids in rat central nervous system (CNS) were determined to acquire the distribution characteristics and differences in cerebral cortex, cerebellum, hippocampus, striatum, medulla oblongata and hypothalamus. It was founded that pseudoephedrine, norephedrine, norpseudoephedrine, methylephedrine (methylpseudoephedrine) were able to cross BBB fast via gastro-intestinal tract after administrated with *Ephedra sinica*. Cortex and hippocampus was the main distribution region, followed by hypothalamus, striatum and cerebellum, in which medulla oblongata had the least. The distribution of various alkaloids, as  $AUC_{0-t, \text{brain}}/AUC_{0-t, \text{blood}}$  was ephedrine > methylephedrine > demethyl ephedrine. Alkaloids in *Ephedra sinica* crossed BBB rapidly, showing the regional distribution tendency in central nervous system, and the distribution was diversity. This group of data provides distribution of bioactive constituents of *Ephedra* in CNS.

**Key words:** *Ephedra sinica*; alkaloids; central nervous system; UHPLC-QTOF-MS<sup>E</sup>; UHPLC-MS/MS

收稿日期: 2017-03-23; 修回日期: 2017-06-26.

基金项目: 江西省自然科学基金资助项目 (20142BAB215064, 20171BAB205092).

\*通讯作者 Tel / Fax: 86-791-87119652, E-mail: sudan\_nj@163.com; songyonggui1999@163.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2017-0262

麻黄 (*Ephedra sinica* Stapf) 始载于《神农本草经》，是一味具有近 2000 年广泛应用历史的中药，中医临床常用来治疗外感风寒表实证，以及胸闷咳喘、风水浮肿等证。其草质茎部位是主要入药部位，蕴含丰富的生物碱、黄酮、挥发油、多糖、酚酸等物质。而麻黄生物碱结构非常相似，存在多对同分异构体，其分离分析一直是难点。毛细管电泳、离子液体添加剂法、共轭方向法都曾被用于麻黄碱与伪麻黄碱的拆分，并且生物碱类成分对神经系统的运行影响较大<sup>[1-4]</sup>。近年来，关于麻黄生物碱中枢系统作用越来越受到重视，有文献报道麻黄碱的平喘作用与中枢作用相关，可促使支气管平滑肌松弛、黏膜毛细血管收缩<sup>[5,6]</sup>，还可通过神经途径影响下丘脑的体温调节中枢从而发挥发汗作用<sup>[7,8]</sup>。另一方面，麻黄生物碱类物质由于兴奋大脑皮层和皮层下中枢所带来的不良反应，对麻黄的开发利用造成了障碍。可见，如何对中药麻黄合理有效使用，需要对麻黄生物碱的中枢作用及其机制形成正确认识。众所周知，支配神经信号传导的主要器官为脑和脊髓，因此，不论是药理作用还是潜在的不良反应<sup>[9-13]</sup>，能否跨过血脑屏障顺利入脑是影响麻黄发挥中枢作用的根本性因素。不同生物碱在中枢组织的分布特征与血脑透过能力的研究可以为揭示这类物质的效应（不良反应）部位与作用机制提供信息和依据，进而形成全面客观评价，发挥中药麻黄不可替代的临床价值。

麻黄生物碱作为一类特殊活性成分，所产生的中枢系统作用从物质基础上看，涉及到该类物质血脑屏障间移行成分的确证及其分布；从作用部位上看，涉及到不同生物碱在中枢系统的分布特征。将两者结合起来，才能从药物和机体相互作用的角度全面认识中枢系统对麻黄生物碱的处置规律与特征。本文建立并采用 UHPLC-QTOF-MS<sup>E</sup><sup>[14]</sup>与 UHPLC-MS/MS 方法，对麻黄生物碱在血脑屏障间的移行成分、分布情况与脑组织分布进行定性定量分析，全面系统地阐述了中药麻黄中枢作用的物质基础、处置规律与脑组织亲和能力，为麻黄中枢作用机制研究提供基础。

## 材料与方 法

**材料** 麻黄 (*Ephedra sinica* Stapf) 产自内蒙古，经江西中医药大学的吴蜀瑶药师鉴定为麻黄科植物草麻黄的干燥草质茎。盐酸麻黄碱 (批号: 171241-201508)、伪麻黄碱 (批号: 171237-201208)、盐酸去甲基麻黄碱 (批号: 100217-200303)、盐酸甲基麻黄碱

(批号: 171247-200301) 对照品均购自中国食品药品检定研究院。盐酸去甲基伪麻黄碱 (批号: 20100412) 购自赤峰艾克制药科技股份有限公司，长春新碱 (内标, 批号: 3924631) 购自 Sigma 公司。甲醇、乙腈、甲酸试剂均为色谱纯；水为纯净水 (屈臣氏集团)，其余试剂均为分析纯。

**仪器** Waters Acquity I-CLASSTM UHPLC 超高效液相色谱系统 (Waters Corporation, Milford, MA, USA); Synapt G2-Si<sup>TM</sup> 高分辨率飞行时间质谱仪 (Waters Corporation, Manchester, UK)。Waters Xevo 三重四极杆串联质谱仪 (Waters Corporation, Milford, MA, USA), Masslynx 4.1 质谱数据系统 (Waters Corporation, Manchester, UK)。

**动物** 雄性无病原体 SD 大鼠 ( $n=24$ , 200~220 g), 由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供。实验动物在适宜条件下 ( $22 \pm 2$  °C, 相对湿度  $50\% \pm 20\%$ ) 适应性饲养 3 天。动物实验按照中华人民共和国国家科学技术委员会颁发的实验动物管理条例执行。

**色谱条件** MS<sup>E</sup>扫描模式: 采用 Acquity UHPLC BEH C<sub>18</sub> (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm, Waters 公司); 流动相: 0.2% 甲酸水 (A)-乙腈 (B); 梯度洗脱程序: 0~2 min, 98%~95% A; 2~5 min, 95%~90% A; 5~7 min, 90% A; 7~15 min, 90%~45% A; 15~18 min, 45%~10% A; 18~22 min, 10% A; 22~24 min, 10%~98% A; 24~26min, 98% A; 流速: 0.3 mL·min<sup>-1</sup>; 柱温: 40 °C; 进样量: 2 μL。

MRM 扫描模式: 采用 Acquity UHPLC BEH C<sub>18</sub> (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm, Waters 公司); 流动相: 0.2% 甲酸水 (A)-乙腈 (B); 梯度洗脱程序: 0~2 min, 98%~95% A; 2~5 min, 95%~90% A; 5~7 min, 90%~73% A; 7~9 min, 73%~60% A; 9~12 min, 60%~98% A; A 相 98% 保持 2 min, 流速: 0.3 mL·min<sup>-1</sup>; 柱温: 40 °C; 进样量: 2 μL。

**质谱条件** MS<sup>E</sup>扫描模式: 采用电喷雾离子源正离子模式, 离子源参数设置: 脱溶剂气流量 (氮气) 800 L·h<sup>-1</sup>, 脱溶剂气温度为 600 °C, 离子源温度 120 °C, 毛细管电压 3.0 kV。锥孔电压 (sampling cone) 40 V, 补偿电压 (source offset) 80 V。MS<sup>E</sup>扫描模式检测, 低能量扫描时 (function 1) 传输碰撞能量为 4 eV, 高能量扫描时 (function 2) 传输碰撞能量为 20~50 eV, 喷雾器压力为 6.5 Bar, 气帘气 (锥孔反吹气) 流速 (cone gas flows) 为 50 L·h<sup>-1</sup>, 扫描范围为  $m/z$  50~1000 Da。准确质量测定采用亮氨酸-脑啡肽 ( $m/z$  556.2771) 作为外标 (Lock Spray<sup>TM</sup>) 进行实

时校正, 流速设为  $5 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

MRM扫描模式: 采用电喷雾离子源正离子模式, 毛细管电压: 1.5 kV; 脱溶剂温度: 350 °C; 脱溶剂气流量 (氮气):  $800 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$ ; 碰撞气流量 (氩气):  $0.17 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$ ; 气帘气 (锥孔反吹气) 流速为  $50 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$ , 具体各化合物质谱优化参数见表 1。

**Table 1** The mass parameters of difference alkaloids and internal standard compound in MRM mode

Compound	DP	CE	Parent ion → daughter ion
Ephedrine	35	13	166.2→148.1
Pseudoephedrine	38	10	166.2→148.1
Norephedrine	42	10	152.1→134.1
Norpseudoephedrine	40	10	152.1→134.1
Methylephedrine	42	15	180.1→162.1
Vincristine	48	25	825.4→413.2

**提取液的制备** 称取适量麻黄药材, 分别用 10 倍、8 倍、8 倍量的水提取 3 次, 每次恒温提取 2 h, 合并 3 次的水提液后进行浓缩成浸膏, 浸膏加适量蒸馏水溶解, 制成混悬液 ( $3 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), 即得。其中含有麻黄碱、伪麻黄碱、去甲基麻黄碱、去甲基伪麻黄碱、甲基麻黄碱 (含甲基伪麻黄碱) 分别为 2.53、1.19、0.30、0.32 和  $2.70 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

**对照品溶液和质控样本的制备** 分别精密称取麻黄碱、伪麻黄碱、去甲基麻黄碱、去甲基伪麻黄碱、甲基麻黄碱对照品适量, 置于不同的 10 mL 量瓶中, 加甲醇超声溶解、定容作为储备液。精密移取各储备液, 置于同一量瓶中, 加甲醇定容制成浓度均为  $50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的混合溶液, 并逐级稀释得到系列溶液用于制备标准曲线和质控样本。所有对照品溶液均于 4 °C 保存。

**内标溶液的制备** 精密称定长春新碱 5 mg 于 10 mL 量瓶中, 加入甲醇超声溶解定容, 得浓度为  $500 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的内标储备液, 于 4 °C 保存备用。

**生物样品取材** 血浆样品: 灌胃给予大鼠相应的麻黄提取液 ( $24 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )。分别于 0、5、10、30、60 和 120 min 从大鼠眼眶后静脉丛取血约 0.5 mL, 置肝素化离心管中离心 ( $1425\times g$ , 5 min), 离心后立即分离血浆, 置 -40 °C 冰箱中冷冻保存, 备用。脑组织样品: 灌胃给予大鼠相应的麻黄提取液 ( $24 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )。分别于给药后 1、1.5 和 2 h, 将大鼠断头处死, 在冰台上立即取脑。用冰冷的生理盐水冲洗, 分离大脑、小脑、延髓、纹状体、海马、下丘脑, 分别放于离心管中, 于 -40 °C 保存备用。

**血浆样品处理** 取血浆样品 100  $\mu\text{L}$  置于 1.5 mL 离心管中, 加内标 (长春新碱) 20  $\mu\text{L}$ , 0.2% 甲酸-乙腈溶液 20  $\mu\text{L}$ , 加入 0.2% 甲酸-乙腈溶液 360  $\mu\text{L}$  沉淀, 涡旋 3 min, 离心 ( $22810\times g$ , 10 min), 取上清液 200  $\mu\text{L}$  于进样小瓶, 进样体积为 2  $\mu\text{L}$ , 进行 UHPLC-MS/MS 分析。

**脑组织样品处理** 样品 A: 脑组织适量于匀浆管中, 精密称重, 按 1 : 4 ( $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 的比例加入 4 倍体积的匀浆介质 (0.2% 甲酸-水), 匀浆 5 min。取脑匀浆液 0.2 mL 置于 1.5 mL 的离心管中, 迅速加入冰冷的 0.2% 甲酸-乙腈 0.4 mL, 涡旋混匀 3 min, 4 °C 离心 ( $12830\times g$ , 5 min), 取上清液 200  $\mu\text{L}$  于进样小瓶, 供 UHPLC-Q-TOF-MS<sup>E</sup> 分析用。

样品 B: 取脑组织匀浆样品 100  $\mu\text{L}$  置于 1.5 mL 离心管中, 加内标 (长春新碱) 20  $\mu\text{L}$ , 冰冷的 0.2% 甲酸-乙腈溶液 20  $\mu\text{L}$ , 之后加入冰冷的 0.2% 甲酸-乙腈溶液沉淀 360  $\mu\text{L}$ , 涡旋 3 min, 离心 ( $22810\times g$ , 10 min), 取上清液 200  $\mu\text{L}$  于进样小瓶, 进样体积为 2  $\mu\text{L}$ , 进行 UHPLC-MS/MS 分析用。

#### 方法学验证

**专属性** 分别按照血浆样品及脑组织样品方法处理, 分别考察空白血浆及脑组织样品, 空白血浆加入对照品及内标, 给药后大鼠血浆及脑组织加内标, 记录相应的色谱图。

**线性与最低定量限** 取大鼠标准血浆或脑组织系列样品 100  $\mu\text{L}$ , 分别按照血浆样品及脑组织样品方法处理, 得到终质量浓度各为 5、20、40、80、200、600 和 1000  $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$  的血浆及脑组织匀浆标曲样品, 进行测定。以每个待测物浓度为横坐标, 待测物与内标物的面积比值为纵坐标, 用加权最小二乘法进行回归运算。

**精密度与准确度** 取大鼠空白血浆及脑组织配制成低、中、高 (10、200 和 800  $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 3 种浓度的质控样品, 每个浓度平行处理 5 份, 根据当日标曲测定 3 天, 计算得到 QC 样品的浓度, 得出该方法的日内、日间精密度与准确度。

**提取回收率及基质效应** 以空白血浆及脑组织配制成 3 个浓度的质控样品, 每个浓度平行 5 份, 分别按照血浆样品及脑组织样品方法处理 (A)。同时取空白血浆及脑组织, 分别按照血浆样品及脑组织样品方法处理, 取上清液配制相同浓度的对照样品 (B), 计算其回收率 (RE) = A / B; 同时以水代替空白血浆及脑组织配制 3 个浓度混标溶液作为无基质样品, 进样测得峰面积 (C), 计算其基质效应 = A / C。

稳定性 考察低、中、高 3 个浓度的质控样品在生物样品模拟环境下室温放置 24 h、-20 °C 放置 15 天、经历 3 次冻-融循环的稳定性。

数据处理 采用 MassLynx4.1 对正离子模式总离子流图进行处理, 结合各离子质量数、保留时间和分子式匹配软件 Elemental composition<sup>TM</sup>, 同时运用化合物结构匹配 MassFragment<sup>TM</sup> 及 UNIFI<sup>TM</sup> 数据处理系统对各主要分子离子峰进行归属。

## 结果

### 1 麻黄生物碱血-脑移行成分鉴定

#### 1.1 入血成分分析

麻黄药材、空白对照组和给药组大鼠生物样品供试液进行 UHPLC-Q-TOF-MS<sup>E</sup> 分析, 得到相应的色谱图, 见图 1。由图可见麻黄碱、伪麻黄碱, 去甲基麻黄碱、去甲基伪麻黄碱、甲基麻黄碱 (含甲基伪麻黄碱) 成分均可经胃肠道吸收进入体循环。此外, 根据文献报道的麻黄碱代谢物, 推测该类生物碱可能代谢产物, 分别提取色谱图进行寻找, 未见有明显代谢产物, 可能因为麻黄生物碱成分在体内基本以原形存在<sup>[15]</sup>, 生物碱原形是药理作用的主要物质基础,

见表 2。

### 1.2 入脑成分分析

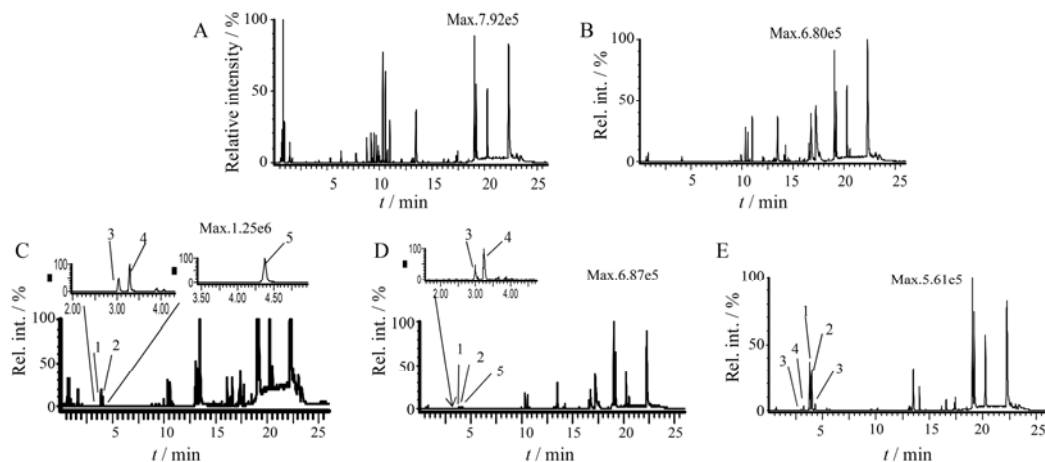
对已经寻找到的血中生物碱类成分和文献中可能吸收入脑的化学成分进行 MS/MS 分析, 结果显示, 入脑的生物碱为麻黄碱、伪麻黄碱, 去甲基麻黄碱、去甲基伪麻黄碱、甲基麻黄碱 (含甲基伪麻黄碱), 吸收入血后可以迅速透过血脑屏障。此外, 根据麻黄提取物中的化学成分及推测的可能代谢产物, 分别从给药脑组织和空白脑组织中得到提取离子色谱图并进行对比, 也未见有明显代谢产物, 说明麻黄生物碱在中枢神经系统是以原形为主要存在形式, 见表 2。

### 2 血-脑中不同生物碱类成分的定量分析与分布

麻黄有机胺类生物碱, 属于苯丙胺类中枢兴奋剂, 能够激活多巴胺 (dopamine, DA) 和  $\alpha 1$  受体, 刺激单胺类物质、去甲肾上腺素 (norepinephrine, NE)、5-羟色胺 (5-hydroxy tryptamine, 5-HT) 等, 对大脑皮层、海马、纹状体等脑区的神经细胞产生影响<sup>[7-9]</sup>, 故而选取这六个脑区进行定量分析。

#### 2.1 方法学验证

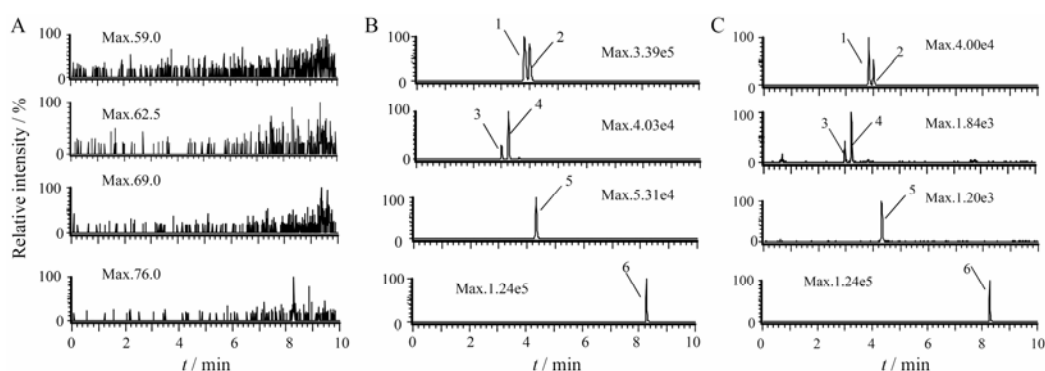
2.1.1 专属性 如图 2 所示, 脑组织匀浆液中内源性成分不干扰分析物的测定。



**Figure 1** The base peak integration (BPI): blank cerebral cortex of rat (A), blank plasma of rat (B), drug-containing cerebral cortex of rat (C), drug-containing plasma of rat (D), and *Ephedra sinica* (E). 1: Ephedrine; 2: Pseudoephedrine; 3: Norephedrine; 4: Norpseudoephedrine; 5: Methylephedrine (Methylpseudoephedrine)

**Table 2** Identification results of alkaloids from *Ephedra sinica* before and after getting across blood brain barrier. \*Blood and brain containing this component;  $\Delta$ Containing methylephedrine and methylpseudoephedrine

No.	$t_R$ /min	Compound	Formula	MS	ppm	MS/MS
1*	2.98	Norephedrine	C <sub>9</sub> H <sub>13</sub> NO	151.21 [M+H] <sup>+</sup>	0.3	134.092 3, 117.070 2, 105.950 0
2*	3.23	Norpseudoephedrine	C <sub>9</sub> H <sub>13</sub> NO	151.21 [M+H] <sup>+</sup>	0.3	134.092 3, 117.070 2, 105.950 0
3*	3.83	Ephedrine	C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> NO	166.12 [M+H] <sup>+</sup>	-0.2	148.107 9, 133.083 1, 117.067 1
4*	4.00	Pseudoephedrine	C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> NO	166.12 [M+H] <sup>+</sup>	-0.2	148.107 9, 133.083 1, 117.067 1
5*	4.31	Methylephedrine $\Delta$	C <sub>11</sub> H <sub>17</sub> NO	180.133 9 [M+H] <sup>+</sup>	-0.2	162.124 2, 148.106 1, 117.064 1



**Figure 2** The typical chromatograms of biological samples: blank brain tissue sample (A), blank brain tissue sample spiked with four compounds, the concentration of all samples is  $1\ 000\ \text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$  (B), and 2 h brain tissue sample after administration of *Ephedra sinica* Stapf (C). 1: Ephedrine; 2: Pseudoephedrine; 3: Norephedrine; 4: Norpseudoephedrine; 5: Methylephedrine; 6: Internal standard (vincristine)

**2.1.2 线性及最低定量下限** 结果见表 3, 脑组织样品与血浆样品中各待测物均呈现良好线性关系 ( $r^2 > 0.99$ ), 血浆样品在  $5\sim 1\ 000\ \text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$  内线性关系良好, 最低定量限均为  $5\ \text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

**Table 3** Regression equations and correlation coefficients of the four alkaloids in brain

Compounds	Regression equation	Correlation coefficient ( $r^2$ )
Ephedrine	$Y = 0.009\ 56X + 0.508\ 3$	0.995\ 7
Pseudoephedrine	$Y = 0.012\ 42X + 0.060\ 3$	0.997\ 1
Norephedrine	$Y = 0.000\ 602X + 0.000\ 321$	0.998\ 6
Norpseudoephedrine	$Y = 0.005\ 807X + 0.017\ 045$	0.996\ 8
Methylephedrine	$Y = 0.005\ 56X - 0.022\ 92$	0.998\ 5

**2.1.3 精密度、准确度及提取回收率** 大鼠脑匀浆中各化合物的日内、日间精密度及提取回收率 RSD 值均小于 15%, RE 值均在  $\pm 15\%$  范围内, 血浆样品中各待测物的精密度与准确度实验均符合要求 (RSD% < 14.3%,  $-8.7\% < \text{RE}\% < 13.8\%$ )、提取回收率在 87%~93%, 表明该方法精密度与准确度良好。

**2.1.4 基质效应** 各待测物在脑匀浆的基质效应介于 90.6%~102.1% 之间, 血浆样品的基质效应在 94%~102%, 该方法的基质效应可忽略不计。

**2.1.5 稳定性** 对各待测物在血浆及脑匀浆中的稳定性实验结果表明, 不同条件下所测各化合物低、中、

高 3 个浓度的 QC 样品 RE 值均在  $\pm 15\%$  以内, RSD 值也小于 15%。

## 2.2 脑组织分布

从图 3 可见, 麻黄生物碱在大脑皮层、小脑、海马、纹状体、延髓和下丘脑 6 个脑区均有吸收分布。相对其他各区而言, 该类生物碱成分均以大脑皮层、海马分布为最多, 其次为下丘脑、纹状体与小脑, 最少分布在延髓部位。但在 2 h 内所测得的多个生物碱成分在延髓中大致呈现一个上升的趋势, 小脑部位为下降的趋势。

## 2.3 麻黄生物碱的血脑屏障分布

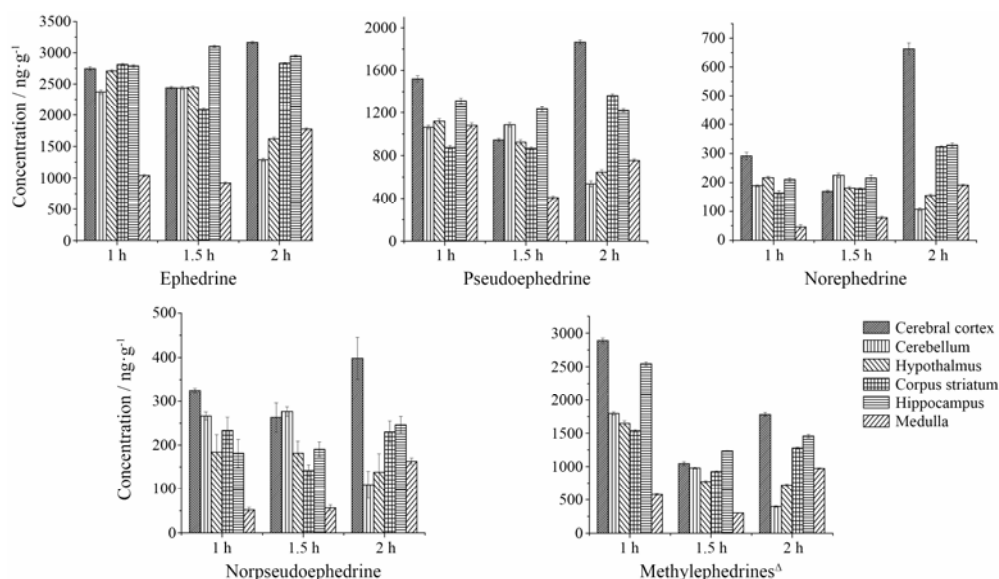
通过 DAS 3.0 软件处理所得的各个脑部组织和血浆中的  $\text{AUC}_{0-t}$  值, 获得不同麻黄生物碱的血脑屏障移行率, 比较药物在血浆和各脑组织的分布情况, 见表 4。可以看出, 麻黄碱成分在脑部 6 个区域中透血脑屏障能力普遍高于其他结构生物碱。去甲基麻黄碱的透血脑屏障能力最弱, 应与该物质具有更大的极性密切相关。

## 讨论

通过不断寻找和优化色谱和质谱条件, 本研究实现了麻黄碱与伪麻黄碱、去甲基麻黄碱与去甲基伪麻黄碱的同时分离测定, 为避免出现较多的基质峰干扰, 影响化合物的鉴定, 增大分析难度, 故采用

**Table 4** Transitional capability ( $\text{AUC}_{0-t, \text{ brain}} / \text{AUC}_{0-t, \text{ blood}}$ ) of *Ephedra* alkaloids in six regions. <sup>△</sup>Containing methylephedrine and methylpseudoephedrine

Compounds	Cerebral cortex	Cerebellum	Hypothalamus	Striatum	Hippocampus	Medulla oblongata
Ephedrine	0.65	0.53	0.58	0.61	0.70	0.27
Pseudoephedrine	0.68	0.49	0.48	0.47	0.63	0.40
Norephedrine	0.37	0.22	0.23	0.23	0.27	0.09
Norpseudoephedrine	0.35	0.24	0.26	0.23	0.29	0.10
Methylephedrine <sup>△</sup>	0.64	0.40	0.37	0.40	0.59	0.17



**Figure 3** The content distribution of four alkaloids in brain tissue. <sup>△</sup>Containing methylephedrine and methylpseudoephedrine

0.2% 甲酸-水作为匀浆介质。确定了以 0.2% 甲酸水-乙腈 (98 : 2) 为初始流动相比比例进行梯度洗脱的简便易行的液质联用测试条件。目前不足之处是甲基麻黄碱与甲基伪麻黄碱未能在这同一条件下成功分离, 故上述结果中, 对甲基麻黄碱与甲基伪麻黄碱作了整体分析。

麻黄生物碱能够激活多巴胺 (DA) 受体, 刺激胺类物质、去甲肾上腺素 (NE) 等。DA 作为脑内重要的神经递质, 是 NE 的前体物质, 在脑部中枢神经系统中多巴胺能神经细胞主要分布在纹状体、海马、下丘脑等脑区, 其中 D1 受体在脑内表达广泛, D2 受体主要分布在纹状体的中等多棘神经细胞中<sup>[16, 17]</sup>, 这与上述麻黄生物碱的分布趋势相一致, 海马、纹状体和下丘脑是其潜在的作用部位, 值得后续研究进一步探索。麻黄生物碱与大脑皮层的高亲和力, 则是该类物质产生中枢兴奋性的主要原因。此外, 值得注意的是, 麻黄生物碱在咳嗽中枢所在的延髓部位分布较少, 提示该类物质更为复杂的作用物质基础与作用机制。

**References**

[1] Yang XH, Xiao CF, Zhang KY, et al. Research progress on clinical application and pharmacological functions of *Ephedra* [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med* (中华中医药学刊), 2015, 33: 2874-2877.  
 [2] Lv X, Guo Q, Zhong WY. Review on chromatographic methods for chiral analysis on ephedrine alkaloids [J]. *Drugs Clin* (现代药物与临床), 2011, 26: 181-187.

[3] Zhao YS, Xie LX, Mao FY, et al. Antiasthma biological potency applied for *Ephedra Herba* quality evaluation [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2015, 46: 3695-3703.  
 [4] Zhu ZM, Li HC, Luo JB. Pharmacokinetic and tissue distribution study of *Ephedrae Herba* and herbal pair of *Ephedrae Herba-Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* in rats [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2014, 37: 2234-2239.  
 [5] Wang X, Xiao N, Zhou JB, et al. Role of ephedrine against cerebral is chemia-reperfusion injury in rats [J]. *Negative* (医学争鸣), 2007, 28: 236-239.  
 [6] Cereda C, Kuntzer T. The potential use of ephedrine in Lambert-Eaton myasthenic syndrome: clinical and electrophysiological evaluation [J]. *J Neurol*, 2008, 255: 1259-1260.  
 [7] Norton RP, Lehnhard RA, Kearns CF, et al. *Ephedra* increases VO<sub>2</sub>, impairs thermoregulation and cardiovascular function, but does not enhance exercise performance [J]. *Comp Exerc Physiol*, 2013, 9: 109-117.  
 [8] Hou XS. Experimental Study on the Influence of Related Factors on the Diaphoretic Function of *Ephedra* and the Decocting Quantity of *Ephedrine* (相关因素对麻黄发汗作用及对麻黄碱煎出量影响的实验研究) [D]. *Shijiazhuang: Hebei Medical University*, 2013.  
 [9] Singh A, Rajeev AG, Dohrmann ML. Cardiomyopathy associated with ephedra-containing nutritional supplements [J]. *Congest Heart Fail*, 2008, 14: 89-90.  
 [10] Miller SC. Psychiatric effects of ephedra: addiction [J]. *Am J Psychiatry*, 2005, 162: 2198-2198.  
 [11] Liu SH, Chuang WC, Lam W, et al. Safety surveillance of traditional Chinese medicine: current and future [J]. *Drug Saf*, 2015, 38: 117-128.

- [12] Kua KP, Lee SWH. Complementary and alternative medicine for the treatment of bronchiolitis in infants: a systematic review [J]. *PLoS One*, 2017, 12: e0172289.
- [13] Kobayashi Y. Analgesic effects and side effects of Ephedra Herb extract and ephedrine alkaloids-free Ephedra Herb extract [J]. *Yakugaku Zasshi*, 2017, 137: 187–194.
- [14] Liu K, Song Y, Liu Y, et al. An integrated strategy using UPLC-QTOF-MS E and UPLC-QTOF-MRM (enhanced target) for pharmacokinetics study of wine processed Schisandra Chinensis fructus in rats [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2017, 139: 165–178.
- [15] Cereda C, Kuntzer T. The potential use of ephedrine in Lambert-Eaton myasthenic syndrome: clinical and electrophysiological evaluation [J]. *J Neurol*, 2008, 255: 1259–1260.
- [16] Xu J, Wang J, Li QH, et al. Advances in study on expression of dopamine and its receptors in acupuncture [J]. *J Anhui Tradit Chin Med Coll (安徽中医药大学学报)*, 2016, 35: 90–93.
- [17] Wang Y, Li CY, Yu SY, et al. Effects on the structure of cerebral temporal lobe cortex and capability of learning and memory of filial mice after administration of heroin and ephedrine [J]. *Acta Anat Sin (解剖学报)*, 2009, 40: 724–731.