



图1 马兜铃酸I对煎煮前(A)、后(B)的HPLC图谱比较

Fig. 1 HPLC Chromatograms of aristolochia acid I reference substance without (A) and after (B) decoction

对马兜铃酸溶出的影响,实验对单煎以及与丹皮共煎后关木通残渣中的马兜铃酸进行了分析,结果见表1。如果配伍后丹皮能够抑制马兜铃酸的溶出,则在共煎后残渣中应该检测到比单煎残渣更多的马兜铃酸,但结果恰恰相反:关木通甲醇提取液中马兜铃酸的量最高,为33.7 μg/mL,关木通单煎后残渣中剩余的马兜铃酸I的量为26.9 μg/mL,而关木通与丹皮共煎后残渣中马兜铃酸I为11.4 μg/mL,此结果不仅说明煎煮3次之后还有一半以上马兜铃酸残留在药材组织中,也提示关木通配伍丹皮后马兜铃酸的溶出量增加,因而在药渣中残留的马兜铃酸的量减少,而之所以关木通与丹皮共煎液中马兜铃酸I的量(14.3 μg/mL)低于关木通单煎液(17.7 μg/mL)的原因是溶出后的马兜铃酸I发生了化学反应。马兜铃酸I在酸、碱条件下皆不稳定,所以推测复方能够降低马兜铃酸I的原因可能在于提供了适宜的反应条件或反应物。由于丹皮酚是丹皮的主要成分,因此实验用丹皮酚与关木通共煎验证其是否有助于马兜铃酸的化学反应,结果表明加入丹皮酚后马兜铃酸的量从单煎液中的17.7 μg/mL变为

10.4 μg/mL,丹皮酚确有助于减少煎煮液中的马兜铃酸的量,这也为马兜铃酸能够通过合理配伍减小毒性提供了更可信的物质基础。

3 讨论

本实验以关木通药对为体系验证了中药配伍能够降低马兜铃酸的毒性,并进行了马兜铃酸配伍减毒机制的研究。对丹皮和关木通共煎后药渣中马兜铃酸的分析表明丹皮不抑制马兜铃酸的溶出,煎煮液中马兜铃酸的量远低于甲醇提取液的原因是马兜铃酸I溶出不完全以及溶出后发生了化学反应,丹皮酚有助于化学反应的发生,本研究在一定程度上为马兜铃属中药提供了新的配伍减毒物质基础。

参考文献:

- [1] Nortier J L, van Herweghem J L. Renal interstitial fibrosis and urothelial carcinoma associated with the use of a Chinese herb (*Aristolochia fangchi*) [J]. *Toxicology*, 2002, 181: 577-580.
- [2] Ioset J R, Raelisona G E, Hostettmann K. Detection of aristolochic acid in Chinese phytomedicines and dietary supplements used as slimming regimens [J]. *Food Chem Toxicol*, 2003, 41: 29-36.
- [3] Hu S L, Zhang H Q, Chan K, et al. Studies on the toxicity of *Aristolochia manshuriensis* (Ganmutong) [J]. *Toxicology*, 2004, 198: 195-201.
- [4] Arlt V M, Pfohl-Leschkowicz A, Cosyns J P, et al. Analyses of DNA adducts formed by ochratoxin A and aristolochic acid in patients with Chinese herbs nephropathy [J]. *Mutat Res*, 2001, 494: 143-150.
- [5] 张金莲, 张的风, 喻松仁. 关木通配伍减毒研究进展[J]. 江西中医学院学报, 2006, 18(6): 74-76.
- [6] 张岩, 刘养清, 赵慧辉. 中药配伍对关木通中马兜铃酸A含量的影响[J]. 天津药学, 2005, 17(4): 3-6.
- [7] 马红梅, 郭俊华, 感爱棣, 等. 炮附子对关木通减毒作用的初步研究[J]. 中草药, 2002, 33(4): 319-320.
- [8] 李春香, 丁里玉, 李国川, 等. 配伍减低关木通中马兜铃酸A溶出量的研究[J]. 河北医科大学学报, 2006, 27(5): 354-357.
- [9] 王勇, 石磊, 金东明, 等. 四逆汤煎煮过程中的溶出和水解平衡[J]. 中草药, 2003, 34(4): 311-314.

雪上一枝蒿控释涂膜剂的制备研究

赵颖^{1,3}, 林亚平^{2*}, 靳风云³, 彭小冰³

(1. 重庆邮电大学生物信息学院, 重庆 400065; 2. 贵州省食品药品监督管理局, 贵州 贵阳 550004;

3. 贵阳中医学院, 贵州 贵阳 550002)

摘要:目的 用均匀设计结合释放模型分析, 探讨雪上一枝蒿涂膜剂的最佳制剂工艺条件。方法 以制剂成型性指标和累积释药率评分为指标, 采用均匀设计法考察药物、PVA、甘油、氯酮用量对制剂外观质量及释放药物性能

收稿日期: 2008-03-03

基金项目: 贵州省跨世纪科技人才工程专项资金课题[黔科合人专字(2000)9812号]

作者简介: 赵颖(1980-), 女, 贵州安顺人, 讲师, 上海中医药大学在读博士, 主要从事中药新剂型的研究及中药新药开发。

Tel: (023)62467659 E-mail: zhaoying1997@163.com

* 通讯作者 林亚平

的影响,用线性回归分析方法建立测评指标与考察因素间的数学模型,结合 GLP 算法与释放过程数学模型分析结果进行综合平衡,得到最佳制剂工艺条件。结果 确定最佳制剂工艺条件为药物 5.0%,PVA 26.0%,甘油 18.0%,氮酮 5.0%。结论 雪上一枝蒿涂膜剂制备简单,质量可控,溶出过程符合非溶蚀型药物体系释放动力学 0 级模型,具有较好控释能力并达到预期释放目标。

关键词:雪上一枝蒿控释涂膜剂;均匀设计;制备工艺

中图分类号:R286.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)12-1807-04

雪上一枝蒿是毛茛科植物短柄乌头 *Aconitum brachypodum* Diels、铁棒锤 *A. pendulum* Busch 及宣威乌头 *A. subrosullatum* Hand.-Mazz. 的干燥块根^[1],为民间习用药物之一。该品祛风、抗炎、镇静功效显著,是治疗风湿疼痛、关节炎、跌打扭伤的要药。雪上一枝蒿有镇痛、抗炎作用,但对其镇痛的作用部位及抗炎机制还有待进一步研究^[2]。雪上一枝蒿多与其他中药配伍制成橡胶膏剂、搽剂等外用复方制剂以及注射剂使用。由于其主要具有治疗作用的成分为毒性较强的乌头碱、次乌头碱等双酯型生物碱,临床上常见有用药后因吸收过量引起严重心律失常、休克的报道。因此,研制具有透皮、控释特点的雪上一枝蒿制剂,是保证该类制剂安全和有效的迫切问题。鉴于提取得到的雪上一枝蒿浸膏水溶性较好,与亲水性高分子材料有良好的相容性,因此,本实验考虑将其制成亲水性涂膜剂,并通过其体外释放特征研究对其制剂处方、质量控制等进行研究,为雪上一枝蒿涂膜剂的研制开发提供依据。

1 仪器与材料

AE-240 电子天平,XTA-7000 电热恒温干燥箱,HJ-6 多头磁力加热搅拌器。

雪上一枝蒿甲素对照品(购于中国药品生物制品检定所),雪上一枝蒿浸膏粉(自制,以雪上一枝蒿甲素计总碱的质量分数为 15.133 mg/g)。聚乙烯醇(PVA₁₂₄)、丙三醇、氮酮、溴甲酚绿、邻苯二甲酸氢钾均为 AR 级。

2 方法与结果

2.1 涂膜剂制备方法:称取处方量 PVA₁₂₄,加水适量浸泡过夜使其完全溶胀,置 80 °C 水浴上加热使 PVA₁₂₄ 溶解,依次将甘油、氮酮及处方量雪上一枝蒿浸膏粉加入 PVA₁₂₄,搅匀,取出,补足水至全量,即得,备用。

2.2 总生物碱的测定方法^[3]

2.2.1 标准曲线的制备:取雪上一枝蒿甲素对照品适量,配制一系列质量浓度的溶液,测定吸光度。以吸光度对质量浓度回归,得回归方程 $Y = -0.0036 + 3.95185X$, $r = 0.9998$,线性范围:13.5~108 μg/mL。

2.2.2 样品的测定:称取涂膜剂 3 份,每份 1.5 g,用

1 mmol/L HCl 稀释至 50 mL,取 2.0 mL 按标准曲线的制备项下操作进行测定。

2.3 评价指标及评价方法

2.3.1 综合评分指标:对成膜时间、均一性、扭曲性、柔韧性、流动性进行评分,加和后作为综合评分(S),其中各单项指标最高分为 2 分,最低分为 0 分;综合评分最高分 10 分,最低分 0 分。

2.3.2 累积释药率测定及评分:将醋酸纤维膜(孔径 0.45 μm)固定于释放池和接受池之间,每号试验平行 6 份,每份取涂膜剂 2.0 g 于释放池中,接受介质用 30 mL (32 ± 0.5) °C 生理盐水,搅拌速度 100 r/min。分别于 0.5、1、2、3、6、12、24 h 移取接受液 5.0 mL,同时补足 5.0 mL 生理盐水。接受液用 2 mmol/L HCl 液定容至 10 mL,取 2.0 mL 测定吸光度,计算各时间的药物累积溶出率(R)。

$$R = \frac{30M_i + 5 \sum_{j=1}^{i-1} M_j}{W} \times 100\%$$

式中 W 为受试制剂中总生物碱质量, M_i (M_j) 为第 i 次(第 j 次)取样时间测得的总生物碱质量浓度, $i, j = 1, 2, 3, 4, \dots$ (对应时间为 0.5、1、2、3、6 h……)

设定 0.5、6、12 h 期望累积溶出率分别为 20%、60%、100%,将 R 转换为累积释药评分 $F_{0.5h}$ 、 F_{6h} 和 F_{12h} ,即 $F_{0.5h} = 10 - |R_{0.5h} - 20|/2$, $F_{6h} = 10 - |R_{6h} - 60|/4$, $F_{12h} = 10 - |R_{12h} - 100|/10$ 。

2.3.3 评价方法:综合评分作为涂膜剂外观质量的衡量指标,各时间段的累积释药率评分作为涂膜剂内在质量的衡量指标,综合各项指标的期望方向,用 GLP(good lattice point)算法进行优选,得到最佳优化结果。

2.4 试验设计:预试验表明,雪上一枝蒿浸膏粉、PVA、甘油和氮酮用量对涂膜剂的外观质量和释放性能均有一定的影响,故确定以药物(A)、PVA(B)、甘油(C)和氮酮(D)与处方投药量的比例作为考察因素,采用 $U_6(6^4)$ 均匀设计表进行优选,因素与水平见表 1。各试验综合评分及累积释药率评分见表 2。将所得结果输入计算机,利用 JYSYJY 程序^[4]分别对累积释药率评分 $F_{0.5h}$ 、 F_{6h} 、 F_{12h} 和综合评分进行分析,结果见表 3。可见, $F_{0.5h}$ 和 F_{6h} 方程无显著性

表 1 因素及其水平

Table 1 Factors and levels

水平	因素			
	A/%	B/%	C/%	D/%
1	1(4.0)	3(20.0)	2(6.0)	6(6.0)
2	2(5.0)	6(26.0)	4(12.0)	5(5.0)
3	3(4.0)	2(18.0)	6(18.0)	4(4.0)
4	4(5.0)	5(24.0)	1(3.0)	3(3.0)
5	5(4.0)	1(16.0)	3(9.0)	2(2.0)
6	6(5.0)	4(22.0)	5(15.0)	1(1.0)

表 2 试验评分

Table 2 Score of uniform test

试验号	综合评分	累积释药率评分		
		$F_{0.5h}$	F_{6h}	F_{12h}
1	6	8.659	6.035	9.357
2	5	9.653	9.278	7.793
3	8	8.920	7.557	8.368
4	7	9.119	6.223	9.005
5	7	8.304	5.945	9.237
6	7	8.754	5.550	9.308

差异,即考察因素的影响均不明显; F_{12h} 和 S ,方程有显著性差异。综合 F_{12h} 和 S 的期望方向,用GLP算法和用程序JYSYSJ在计算机上进行优选,综合 F_{12h} 和 S 两项指标进行分析,可得到涂膜剂的最佳处方用量,即药物用量(X_1):5.0%;PVA用量(X_2):16.0%;

表 4 雪上一枝蒿涂膜剂释放数据及拟合结果($n=6, t_0=0$)

Table 4 Released data and simulated result of release-controlled liniment of *A. brachypodum* ($n=6, t_0=0$)

试验号		0.5 h	1 h	2 h	3 h	6 h	12 h	24 h	K_0	α	r
1	实测	30.73	48.68	67.31	75.98	83.79	93.57	96.87	0.638 2	-0.699 7	0.983 5
	估计	26.93	45.90	68.70	80.03	89.84	91.19	91.21			
2	实测	22.78	32.93	42.62	53.78	64.33	77.93	78.34	0.344 9	-0.457 5	0.973 0
	估计	15.42	27.68	45.20	56.28	70.55	75.08	75.39			
3	实测	28.64	43.98	55.70	63.43	74.66	83.68	84.99	0.532 3	-0.661 4	0.969 7
	估计	22.66	38.94	59.05	69.42	78.97	80.46	80.49			
4	实测	33.57	49.1	62.53	75.87	83.34	92.37	93.39	0.639 1	-0.714 7	0.977 9
	估计	26.87	45.67	68.01	78.95	88.20	89.41	89.43			
5	实测	27.05	40.14	55.26	64.15	82.42	89.8	91.92	0.454 9	-0.512 1	0.984 2
	估计	20.07	35.60	56.94	69.72	84.72	88.64	88.83			
6	实测	29.97	47.47	67.97	77.24	86.7	93.08	96.53	0.632 5	-0.686 7	0.991 9
	估计	26.77	45.76	68.78	80.37	90.62	92.09	92.11			

进行分析,特别是用非溶蚀型药物体系释放动力学0级模型拟合分析的基础上,采用综合平衡法,得出最佳制备工艺条件为:药物用量5.0%,PVA用量26.0%,甘油18.0%,氮酮用量5.0%。此结果类似于均匀设计表中的2号试验,相应的模型方程为 $F=(0.344 9/-0.457 5)[e^{-0.457 5t}-1]$ 。

表 3 累积释药率评分和综合评分的分析

Table 3 Analysis for accumulated releasing rate and comprehensive score

回归方程	R	SS	F 值	显著性
$F_{0.5h}=5.798 8+0.178 8 X_1$ $+0.162 6 X_2+0.024 9 X_3$ $+0.094 1 X_4$	0.943 2	0.115 8	2.016 0	$P>0.05$
$F_{6h}=0.340 6+0.346 3 X_2$ $+0.131 3 X_3+0.402 6 X_4$	0.813 4	0.115 8	1.303 4	$P>0.05$
$F_{12h}=12.239 4-0.652 0 X_1$ $+0.024 3 X_2^2+0.402 6 X_4^2$ $-0.035 X_3X_4$	0.993 9	0.021 7	20.295 4	$P<0.05$
$S=-6.725 4+2.129 1 X_2$ $-0.088 7 X_2^2+1.467 6$ $X_1X_4-0.580 6 X_2X_4$	0.992 2	0.0831	20.295 4	$P<0.05$

甘油(X_3):18.0%;氮酮用量(X_4):5.0%。

将雪上一枝蒿涂膜剂均匀设计试验中所得累积释药率数据采用非溶蚀型药物体系释放动力学模型^[5]分别进行0级、1级、2级过程拟合,结果满足0级释放过程,证明雪上一枝蒿涂膜剂各配方组成均有按0级释放的趋势,拟合结果见表4。

非溶蚀型药物体系释放动力学0级模型: $F=$

$$\frac{K_0}{\alpha}(e^{\alpha t}-1)$$

式中 K_0 为释放速率参数, α 为释放速率参数的变化率($\alpha \neq 0$)

2.5 结果:在对涂膜剂均匀设计各试验的 F_{12h} 和 S

3 讨论

影响涂膜剂制备最主要的因素有成膜材料、保湿剂、皮肤促渗剂类型及其用量等。由于雪上一枝蒿浸膏粉水溶性较好,故选择最为常用的亲水性材料PVA₁₂₄作为成膜材料。在预试验基础上采用均匀设计,结合累积释放过程的研究进行涂膜剂的配

方优选,有效减少了实验次数,同时根据优选条件制备的涂膜剂用于治疗风湿疼痛、跌打损伤,无皮肤过敏性,舒适度高,符合制剂预期释放要求。

目前,众多有关制剂的制备工艺优选报道中,多仅选择制剂成型性指标作为测评指标,显然这不利于制剂的内在质量控制。透皮给药系统研究中,药物自高分子储库材料中溶出的多少、快慢更是质量控制的关键。本实验将涂膜剂0.5、6、12 h的累积溶出率评分 $F_{0.5h}$ 、 F_{6h} 、 F_{12h} 作为控释涂膜剂质量的一个量化指标,显然是必要的。

将均匀实验中各组配方的累积释药率用非溶蚀型药物体系释放动力学0级模型进行拟合,通过获得参数 K_0 、 α ,对其比较分析,不仅得到了一个达到

预期释放目标的处方及其释放过程模型,以此作为制剂生产过程中的质量控制指标,同时也为今后临床需要选择相应的配方和模型奠定了基础。

参考文献:

- [1] 贵州省食品药品监督管理局. 贵州省中药和民间药物质量评价[M]. 贵阳:贵州科学技术出版社,2003.
- [2] 陈永康,刘茂坤. 家种与野生雪上一枝蒿总生物碱性及药理的比较研究[J]. 中国民族民间医药杂志,1997(1):38-42.
- [3] 杜利云. 雪上一枝蒿总生物碱及其注射液含量测定方法的改进[J]. 中国民族民间医药杂志,2000(5):301-302.
- [4] 林亚平. 中药制剂均匀试验设计微机软件的研制和应用[J]. 中国中药杂志,1995,20(8):473-476.
- [5] 林亚平,卢维伦. 非溶蚀型药物体系的释放动力学新模型—Fick第一扩散定律的修正[J]. 药学报,1997,32(11):869-873.

天花粉多糖的单糖组成和相对分子质量的测定

黄晓兰¹,吴惠勤¹,王蔚²,黄芳¹,林晓珊¹

(1. 中国广州分析测试中心 广东省化学危害应急检测技术重点实验室,广东 广州 510070;

2. 广州中一药业有限公司,广东 广州 510000)

摘要:目的 研究天花粉多糖的单糖组成、相对分子质量(M_r)及其分布。方法 天花粉用超声波振荡提取、乙醇沉淀分离出多糖,并用重结晶、色谱柱纯化后,采用气相色谱-质谱(GC-MS)、高效液相色谱(HPLC)分析天花粉多糖的单糖组成,用凝胶渗透色谱(GPC)分析天花粉多糖的 M_r 及其分布。结果 天花粉多糖是由鼠李糖、阿拉伯糖、果糖、甘露糖、葡萄糖和半乳糖组成的杂多糖,经色谱柱纯化得到的天花粉多糖与未经纯化的天花粉粗多糖的单糖组成相同,但质量分数有所差别;天花粉多糖的GPC图有两个多糖峰,天花粉粗多糖的两个GPC峰的数均相对分子质量(M_n)分别为 1.8×10^5 和1460,天花粉多糖的两个GPC峰的 M_n 分别为 1.60×10^5 和4554。结论 两种天花粉多糖的 M_r 及单糖组成的质量分数有区别。

关键词:天花粉多糖;单糖组成;相对分子质量;HPLC;GC-MS;GPC

中图分类号:R286.1 **文献标识码:**A **文章编号:**0253-2670(2008)12-1810-03

天花粉又名栝楼,是葫芦科植物栝楼 *Trichosanthes kirilowii* Maxim. 的干燥块根。天花粉在增强机体免疫功能、抗肿瘤、抗艾滋病毒方面具有很好的功效^[1,2]。天花粉水提取物得到的天花粉多糖具有降血糖的活性^[3]。天花粉与其他中药配伍组成的药物,具有明显的降血糖功效^[4~6]。目前有关天花粉多糖的成分分析研究很少文献报道^[3,7]。笔者已对天花粉多糖的提取、分离和纯化方法进行了研究^[8]。本实验进一步采用气相色谱-质谱(GC-MS)、高效液相色谱(HPLC)、凝胶渗透色谱(GPC)对天花粉多糖的单糖组成、相对分子质量(M_r)及其分布等进行研究,对进一步探讨天花粉多糖的药理作用,以及天

花粉多糖的开发利用具有重要的意义。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪,美国安捷伦公司;Agilent 6890GC/5973MS 气相色谱/质谱联用仪,美国安捷伦公司;721N 型分光光度计,上海分析仪器厂。

乙腈,Merck 公司,HPLC 级;无水乙醇、丙酮、 KH_2PO_4 等试剂,AR 级;试验用水,Millipore 超纯水。

2 方法与结果

2.1 天花粉粗多糖提取与纯化^[8]:取天花粉 100 g,加入 500 mL 水,45 °C 浸提 2 h,再超声波振荡提取 2 h,静置沉淀后,经真空抽滤得到提取液。清液于

收稿日期:2008-03-28

基金项目:广东省科技计划资助项目(2006B35605009)

作者简介:黄晓兰(1964—),女,广东潮州人,研究员,主要从事药物及食品分析工作。Tel:(020)87686536 E-mail:wenhxl@126.com