

編號: CCMP90-RD-011

中藥藥膠布及藥酒製劑之成分分析及其釋出效應之研究 (3-1) 中藥藥膠布抽提物製成油性與水性藥膠布之品質評估與成分釋出效應之研究

詹道明

高雄醫學院藥學研究所

摘 要

本研究採用萬應膏為模式藥物，溶媒抽提率為乙醇 $\geq 50\%$ 乙醇水 > 水 >> 麻油，將乙醇浸膏製成油性與水性藥膠布執行體外溶離試驗，發現指標成分確實可被偵測，水性藥膠釋出效果優於油性藥膠。

關鍵詞: 萬應膏、藥膠布、藥物釋放

(本文彩色附圖 01-07，詳見附錄二)

編號: CCMP90RD-011

A study on the quality control of the hydrophilic and hydrophobic plasters containing the extract of plaster formulation and the establishment of release of indicating components(3-1)

Thau-Ming Cham

Graduate Institute of Pharmaceutical Sciences

Kaohsiung Medical College

Abstract

“Wan Ying Kau” has been chosen as the model formulation. The extract efficiency of herbal medicine is in the rank order ethanol \geq 50 % ethanol-water solution > water >> sesame oil. Both hydrophilic and hydrophobic plasters were manufactured and the result shows that the chemical makers were detected in in-vitro diffusion test. The drug release capacity of hydrophilic plaster is better than that of hydrophobic plaster.

Keywords: Wan Ying Kau, plaster, drug release

壹、前言

藥膠布在國內 OTC 市場佔有很大的比例，因其有方便性及速效性兩大優點。依行政院衛生署中醫藥委員會九十年研究重點⁽¹⁾，研究項目四、4-3、探討藥膠布中之有效成分及其釋出效應之研究；研究目的設定為建立檢驗標準；其問題背景說明係藥膠布目前因藥材與麻油一齊熬煮，僅能檢出後下的成分，但對於熬出的情況不甚瞭解。

藥膠布在藥劑學上之分類⁽²⁾，屬硬膏劑的一種，膏藥、藥膠布、貼片等均屬之，目前市面上之中藥藥膠布，係由傳統膏藥改良而成，傳統膏藥製法係以麻油熬煮藥材加入黃丹、縮丹聚合、去火毒、成型塗佈後即為膏藥劑。由於現代製藥工藝的進步，目前在藥膠布之製程上傾向採用樹脂或水性配方來取代有毒的黃丹，這種演進值得鼓勵。惟在中醫藥強調藥材道地，遵古法製，傳統硬膏之製程，以麻油熬煮藥材，在熬煮過程中是否會影響成分含量？油脂在加熱過程中，黏度變大，聚合度加大，酯價與碘價下降，致使檢品不易處理，均造成分析上的困難。

目前市售之中藥材指標成分多為較具極性者，用於以水抽提或乙醇抽提之濃縮製劑而言，較為適用；對於藥膠布成分以麻油抽提者，為較低極性之成分，現有之指標成分則多不適用。故，應評估以水抽提浸膏或乙醇抽提浸膏來取代麻油抽提浸膏，以便製成藥膠布，進行質量檢控並比較其優缺點。

藥膠布分析檢驗標準之設定，目前公定書未有明確的規範；甚至以麻油抽提之成分是否存在，抽出後是否可以被釋放與吸收，尚無切確定論。在中醫藥委員會張主委成國先生決心將台灣建設為藥膠布科技島之同時，藥膠布之中藥材指標成分抽提、有效成分釋出及動物體外試驗等基礎研究之執行，實在意義重大。

本計劃擬採用萬應膏⁽²⁾為研究處方，處方出處為醫宗金鑑，進行抽提物之釋出條件探討，希望進而建立可靠之檢驗標準。方法中分別評估以麻油，水及乙醇作為抽提溶媒，對各指標成分之釋出效應，以作為後續製程之參考。將最佳抽提溶媒之抽提物製成油性及水性藥膠布，比較分析其藥劑學差異，進行上述兩者之透皮吸收效應評估。

貳、材料與方法

一、材料：

藥材：川烏，草烏，生地黃，白朮，白芫，肉桂，白芷，當歸，赤芍藥，羌活，苦參，烏藥，甘草，獨活，元參，大黃與木^(四)子。

抽提溶媒：麻油，水與乙醇。

指標成分⁽³⁾：Paeoniflorin，Glycyrrhizin，Cinnamic acid，Ferulic acid 與 Osthole。

其它：甲醇（Methanol），乙酸乙酯（Ethyl acetate），乙醇（Ethanol），氰甲烷（Acetonitrile），苯（Benzene），氯仿（Chloroform）。

賦形劑：樹脂（Resin），壓克力酸（Acrylic acid）。

二、儀器：

Shimadzu HPLC（日本島津株式會社），減壓濃縮機（日本 Eyela Tokyo Rikakikai Co., Ltd.，），乾燥機（日本 Eyela Tokyo Rikakikai Co., Ltd.，），經皮吸收溶離測定器（台灣慶發玻璃儀器有限公司）

三、方法：

（一）藥材成分抽提

萬應膏：原方劑中去除象皮與穿山甲等藥材，其餘川烏，草烏，生地黃，白朮，白芫，肉桂，白芷，當歸，赤芍藥，羌活，苦參，烏藥，甘草，獨活，元參，大黃與木⁽⁷⁴⁾子（去殼）藥材各 15 g，共 255 g。

1. 麻油萃取：將上述藥材加麻油 500 mL 浸泡 24 hr，以 150°C 加熱萃取 3 hr 後，用紗布過濾並用麻油定容至 500 mL，即為萬應膏麻油萃取液。
2. 乙醇萃取：將上述藥材加乙醇 500 mL，加熱迴流萃取 24hr 後，用紗布過濾並用乙醇定容至 500 mL，即為萬應膏乙醇萃取液。
3. 50% 乙醇萃取：將上述藥材加 50% 乙醇 500 mL，加熱迴流萃取 24 hr 後，用紗布過濾並用 50% 乙醇定容至 500mL，即為萬應膏 50% 乙醇萃取液。

4. 水萃取：將上述藥材加水 500 mL，加熱迴流萃取 24 hr 後，用紗布過濾並用水定容至 500 mL，即為萬應膏水萃取液。

(二) 指標成分製

1. Paeoniflorin 標準品檢液：Paeoniflorin 指標成分 1 mg，以甲醇稀釋成 10 mL (0.1 mg/mL)。
2. Osthole 標準品檢液：取 Osthole 指標成分 1 mg，以甲醇稀釋成 10 mL (0.1 mg/mL)。
3. Cinnamic acid 標準品檢液：取 Cinnamic acid 指標成分約 1 mg，以甲醇稀釋成 10 mL (0.1 mg/mL)。
4. Ferulic acid 標準品檢液：取 Ferulic acid 指標成分約 1 mg，以甲醇稀釋成 10 mL (0.1 mg/mL)。
5. Glycyrrhizin 標準品檢液：取 Glycyrrhizin 指標成分約 1 mg，以甲醇稀釋成 10 mL (0.1 mg/mL)。

(三) 含量測定

1. 麻油萃取液：取上述製備萬應膏麻油萃取液 1 mL，加 n-hexane 10 mL 及 methanol 10 mL 進行分配層析並取 methanol 層，再將 methanol 層減壓濃縮乾後，定容至 10 mL 並添加一定濃度之內部標準物質後，經 0.45 μ m 過濾膜過濾備用。
2. 乙醇萃取液：將上述製備萬應膏乙醇萃取液經減壓濃縮後，以定量瓶定容至 5 mL 並添加一定濃度之內部標準物質後，經 0.45 μ m 過濾膜過濾備用。
3. 50% 乙醇萃取液：將上述製備萬應膏 50% 乙醇萃取液經減壓濃縮後，以定量瓶定容至 5 mL 並添加一定濃度之內部標準物質後，經 0.45 μ m 過濾膜過濾備用。
4. 水萃取液：將上述製備萬應膏水萃取液經減壓濃縮後，以定量瓶定容至 5 mL 並添加一定濃度之內部標準物質後，經 0.45 μ m 過濾膜過濾備用。
5. HPLC 操作條件 (4, 5)

使用儀器：Shimadzu LC-6A HPLC

分離管柱：Merck 50995 LiChrospher RP-18 (e) 4x125 mm

分離管溫度：室溫

藥材/指標成分	移動相	UV 波長	流速	備註
赤芍藥/Paeoniflorin	水:氘甲烷=9:1	230 nm	1 mL/min	
甘草/Glycyrrhizin	6%稀醋酸:氘甲烷=7:3	254 nm	1 mL/min	
獨活/Osthole	水:氘甲烷=6:4	320 nm	2 mL/min	
當歸/Ferulic acid	甲醇:2%醋酸=25:75	253 nm	1 mL/min	
肉桂/Cinnamic acid	0.05%磷酸:氘甲烷=7:3	274 nm	1 mL/min	

(四) 分析方法確效

1. 專一性：採用集光二列陣紫外光 (PDA, Photo Diode Array UV) 分析鑑別指標成分波峰純度。

2. 檢量線與範圍：

取對照標準品泡成較高濃度之儲存溶液，取儲存溶液加入等量之內標準品，泡製成一系列 ($n \geq 5$) 濃度之標準品溶液，注入 10 μ L，以標準品與內部標準品之波峰面積比為 Y 軸，標準品之濃度為 X 軸作圖，求出檢量線之線性方程式及相關係數。

3. 同日間與異日間分析之變異

新鮮配製檢量線之標準溶液，分別於上午 8 時、中午 12 時與下午 4 時三個時段，進行溶液中蛇床子素定量分析，重覆分析三次，連續 3 日；計算其平均值、標準偏差、變異係數及相對殘差，以評估其分析條件之穩定性及測量值之再現性。

4. 回收率試驗

精確稱取已知指標成分含量之藥品浸膏 1.0 g，分別加入指標成分儲備溶液 (1.0 mg/mL) 0.5, 1.0 及 1.5 mL 後，再添加最佳抽提溶媒至 10 mL，以超音波震盪 60 min，過濾備用。

回收率 (%) = [(檢測所得之指標成分含量 - 已知之指標成分含量) / 指標成分之加入量] x 100

(五) 藥膠布之試製與評估⁽⁶⁾

1. 採用萬應膏為研究處方，由專業 GMP 中藥藥膠布廠提供藥膠布賦形劑及設備來產製樣品供研究用。

2. 每片藥膠布含適量之萬應膏處方藥材乙醇抽提浸膏，相當於 17 味藥

材各取 1 g，調入樹脂或壓克力酸作為基劑，製成油性及水性藥膠布。

3. 試製三批，批量 2000 片（限於製造設備之最小批量為 2000 片）。

4. 質量管制方法

(1) 性狀

(2) 一般規定

A. 本品之布面，無滲出黏性物質。

B. 黏性試驗：取本品五片緊密貼合於皮膚上，應不能脫落，並且撕下後粘貼部位應不會有藥膠殘留。或以滾球測定法，測定其黏性。

C. 尺寸偏差試驗及重量差異。

5. 薄層層析法鑑別

薄層層析板：Silica gel 60 254

檢液點注量：5 μ L

展開距離：5 cm

藥材/指標成分	移動相	檢測方法	結果
赤芍藥/Paeoniflorin	氯仿：甲醇=6：2	茴香醛硫酸發色液 105°C 3'	Rf：0.47，紫色色點
甘草/Glycyrrhizin	正丁醇：水：冰醋酸=7：2：1	254 nm	Rf：0.29，暗褐色色點
獨活/Osthole	正己烷：乙酸乙酯=8：2	254 nm	Rf：0.26，暗褐色色點
當歸/Ferulic acid	氯仿：甲醇=6:1	254 nm	Rf：0.41，暗褐色色點
肉桂/Cinnamic acid	正己烷：乙酸乙酯=8：2	254 nm	Rf：0.34，暗褐色色點

6. 含量測定

見貳-三-(三)-5。

(六) 體外釋出試驗

1. 監視指標成分為 Paeoniflorin，Glycyrrhizin，Cinnamic acid，Ferulic acid 與 Osthole。

2. 採用 Franz diffusion cell 進行體外釋出試驗。

3. Cell 截面積：5 cm²

Skin Sample 將以人工膜取代人皮。

溫度：36.5–37.5°C

攪拌速度: 100 rpm

溶媒：140 mM Sodium chloride + 0.1 mM Sodium pyrithione + 0.4 mM KH₂PO₄+2.0 mM K₂HPO₄ 混合後以磷酸調整 pH=7.4。定時予以評估。

參、結果

- 1.水、乙醇、50%乙醇與麻油之抽提率之比較，發現溶媒抽提效果以麻油最差，以50%乙醇為最佳（表一）。屏科大賴宏亮教授之結果呈現乙醇抽提為最佳，由於本計劃中僅評估部份指標成分（5種）作為藥品品管之用，賴老師評估之指標成分（12種）較具全面性，經子計劃會議商討後，決定以乙醇抽提物進行後續實驗。
- 2.Paeoniflorin、Cinnamic acid、Ferulic acid、Osthole 與 Glycyrrhizin 等五種指標成分之檢量線製作（表二），其線性極佳，r 值大於 0.999，濃度範圍 25 µg/mL - 400 µg/mL。
- 3.各指標成分之分析方法專一性、精密度與準確度（表三-表七）呈現之結果令人滿意，C.V.值均小於 5.0%，回收率介於 98.8%–99.4%(表八)。
- 4.製成之藥膠布符合 JP 13th ed 外用膠布劑之規定。
- 5.水性藥膠布之黏性附著力不如油性藥膠布。水性藥膠布之指標成分釋放效果大於油性藥膠布，此現象可以由薄層層析法看出（圖三-圖七）。

肆、討論

- 1.麻油抽提物抽提效率不佳，除了熬煮過程可能破壞該成分外，麻油抽提物屬性為親油性，所抽出之物質推論應屬於油溶性物質，計劃中所選擇的指標成分多為親水性，如此所獲得之結論容易產生偏差。
- 2.油性及水性藥膠布之預處方已完成，實驗室試製已有成品，可執行後續研究。唯處方尚有改進空間。
- 3.傳統上麻油抽提物以油性基劑作成藥膠布並無不妥，融合度亦佳。當採乙醇水抽提物時，無法與油性基劑互相融合，並導致分層與不均勻。需加入適量界面活性劑，促進其融合。
- 4.油性藥膠布結構較水性藥膠布緊密，黏性亦較強，藥物釋放所受的牽制較多，故釋放的效果亦會受到影響。

伍、結論與建議

- 1.分析方法所顯示出之確效參數均佳，分析條件應可以適用於本計劃之相關應用。
- 2.就實驗結果而言，極性溶媒確實可以抽出較多之指標成分，抽提效果優於麻油，惟麻油熬煮後可能產生的新物質，古人可能就是以其作為療效，其中的得失，值得進一步研究。
- 3.水性藥膠布於藥物釋放上表現優於油性藥膠布，但其黏著力差是其公開的致命傷，若能對新一代之水性藥膠布基劑進行製劑學研究，可以兼顧水性特點與提高黏性，並將技術轉移廠商，相信”將台灣建設成為藥膠布科技島”，指日可待。

陸、參考文獻

- 1.中醫藥委員會研究組，2000.09，行政院衛生署中醫藥委員會九十年度中醫藥研究計劃申請作業手冊，中華民國行政院衛生署中醫藥委員會
- 2.孟竇武，孟聰子與孟慶恆，1996，中國膏藥藥膏摻藥全書 p.224，遼寧科學科技出版社
- 3.國家醫藥管理局中草藥情報中心編，1986，植物有效成分手冊，人民衛生出版社
- 4.原田正敏，平成元年，繁用生藥之成分定量，廣川書局
- 5.藥物食品檢驗局，1999，中藥檢驗專輯（十一）中藥濃縮製劑指標成分定量方法
- 6.Carstensen, J.T. 1990. Drug Stability – principle and practice. Marcel Dekker, Inc., New York, U.S.A.

柒、圖表

表一、不同溶媒對藥材之抽提效率 (%)

溶媒名稱	赤芍藥	甘草	獨活	當歸	肉桂
麻油	0	0	0.8	0	0
水	15.2	98.2	24.3	93.4	23.1
乙醇	74.6	95.3	100.0	98.6	89.4
50% 乙醇	100.0	100.0	99.8	100.0	100.0

*以最高抽提率為 100%

表二、線性與濃度範圍

藥材/指標成分	迴歸方程式	r 值	濃度範圍
赤芍藥/Paeoniflorin	$Y=25010.1+5.3*10^6X$	0.9988	25 µg/mL - 400 µg/mL
甘草/Glycyrrhizin	$Y=-36527.9+8.2*10^6X$	0.9995	25 µg/mL - 400 µg/mL
獨活/Osthole	$Y=-5436.0+5.0*10^6X$	0.9995	25 µg/mL - 400 µg/mL
當歸/Ferulic acid	$Y=-126805.6+5.2*10^7X$	0.9997	25 µg/mL - 400 µg/mL
肉桂/Cinnamic acid	$Y=90066.4+8.8*10^7X$	0.9998	25 µg/mL - 400 µg/mL

表三、Paeoniflorin 之同日內與異日間變異

Concentration(µg/mL)	Intraday(n=3)		Interday(n=3)	
	Precision	Accuracy	Precision	Accuracy
	Mean±S.D. (C.V.%)	R.E.(%)	Mean±S.D. (C.V.%)	R.E.(%)
400.0	395.0±3.9(1.0)	-1.3	398.0±3.1(0.8)	-0.5
200.0	207.9±1.7(0.8)	4.0	201.9±1.5(0.7)	1.0
100.0	102.3±1.5(1.5)	2.3	105.3±0.4(0.4)	5.3
50.0	48.9±1.6(1.2)	-2.2	51.9±1.4(2.7)	3.8
25.0	24.6±1.0(4.1)	-1.6	25.2±1.1(4.4)	0.8

表四、Glycyrrhizin 之同日內與異日間變異

Concentration(µg/mL)	Intraday(n=3)		Interday(n=3)	
	Precision	Accuracy	Precision	Accuracy
	Mean± S.D.(C.V.%)	R.E.(%)	Mean± S.D.(C.V.%)	R.E.(%)
400.0	409.6±19.2(4.7)	2.4	401.6±19.2(4.8)	0.4
200.0	200.0±4.1(2.1)	0.0	201.2±3.7(1.8)	0.6
100.0	106.6±3.3(3.1)	6.6	103.6±1.3(1.3)	3.6
50.0	48.6±0.1(0.2)	-2.8	51.2±0.2(0.4)	2.4
25.0	25.1±0.1(0.4)	0.5	24.9±0.2(0.8)	-0.4

表五、Osthole 之同日內與異日間變異

Concentration($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Intraday(n=3)		Interday(n=3)	
	Precision	Accuracy	Precision	Accuracy
	Mean \pm S.D.(C.V.%)	R.E.(%)	Mean \pm S.D.(C.V.%)	R.E.(%)
400.0	397.0 \pm 4.1(1.0)	-0.8	403.2 \pm 4.3(1.1)	0.8
200.0	207.7 \pm 2.9(1.4)	3.9	197.7 \pm 2.8(1.4)	-1.2
100.0	96.7 \pm 1.6(1.7)	-3.3	99.7 \pm 1.2(1.2)	-0.3
50.0	50.5 \pm 0.7(1.4)	1.0	50.3 \pm 0.7(1.4)	0.6
25.0	24.6 \pm 0.7(2.8)	-1.6	25.0 \pm 0.6(2.4)	0.0

表六、Ferulic acid 之同日內與異日間變異

Concentration($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Intraday(n=3)		Interday(n=3)	
	Precision	Accuracy	Precision	Accuracy
	Mean \pm S.D.(C.V.%)	R.E.(%)	Mean \pm S.D.(C.V.%)	R.E.(%)
400.0	393.3 \pm 15.8(4.0)	-1.7	399.3 \pm 16.8(4.2)	-0.2
200.0	206.2 \pm 0.4(0.2)	3.1	201.2 \pm 0.4(0.2)	0.6
100.0	99.0 \pm 1.9(1.7)	-1.0	99.3 \pm 1.1(1.1)	-0.7
50.0	47.5 \pm 1.0(2.1)	-5.0	49.4 \pm 1.0(2.0)	-1.2
25.0	25.7 \pm 0.1(0.4)	2.8	24.8 \pm 0.3(1.2)	-0.8

表七、Cinnamic acid 之同日內與異日間變異

Concentration($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Intraday(n=3)		Interday(n=3)	
	Precision	Accuracy	Precision	Accuracy
	Mean \pm S.D.(C.V.%)	R.E.(%)	Mean \pm S.D.(C.V.%)	R.E.(%)
400.0	395.6 \pm 3.8(1.0)	-1.1	398.6 \pm 2.8(0.7)	-0.4
200.0	206.8 \pm 1.8(0.9)	3.4	202.8 \pm 1.1(0.5)	1.4
100.0	97.3 \pm 0.4(0.4)	-2.7	102.3 \pm 0.2(0.2)	2.3
50.0	49.6 \pm 0.7(1.4)	-0.8	50.1 \pm 0.3(0.6)	0.2
25.0	25.2 \pm 1.1(4.4)	0.8	24.8 \pm 0.7(2.8)	-0.8

表八、回收率試驗

藥材/指標成分	添加量 (mg)	回收量 (mg)	回收率 (%)	Average	RSD(%)
赤芍藥/Paeoniflorin	0.5	0.49	98.0	98.8	0.69
	1.0	0.99	99.0		
	1.5	1.49	99.3		
甘草/Glycyrrhizin	0.5	0.49	98.0	98.9	1.01
	1.0	1.0	100.0		
	1.5	1.49	98.7		
獨活/Osthole	0.5	0.49	98.0	98.9	1.01
	1.0	1.0	100.0		
	1.5	1.48	98.7		
當歸/Ferulic acid	0.5	0.5	100.0	99.4	0.51
	1.0	0.99	99.0		
	1.5	1.49	99.3		
肉桂/Cinnamic acid	0.5	0.49	98.0	99	1.01
	1.0	0.99	99.0		
	1.5	1.5	100.0		

表九、藥膠布含量測定 (mg/pcs)

藥膠布/ 指標成分	Paeoniflorin Mean±S.D.	Glycyrrhizin Mean±S.D.	Osthole Mean ± S.D.	Ferulic acid Mean ± S.D.	Cinnamic acid Mean ± S.D.
水性藥膠布	16.42±0.64	35.81±1.24	19.39±0.91	16.62±0.64	8.9±0.42
油性藥膠布	16.46±0.73	38.23±0.99	17.46±0.83	13.87±0.73	9.6±0.31

N =3

表十、藥膠布體外溶出含量測定 (mg/pcs)

藥膠布/ 指標成分	Paeoniflorin Mean±S.D.	Glycyrrhizin Mean±S.D.	Osthole Mean±S.D.	Ferulic acid Mean±S.D.	Cinnamic acid Mean±S.D.
水性藥膠布	2.62±0.11	0.86±0.03	0	0.85±0.02	0.86±0.04
油性藥膠布	1.28±0.10	0.78±0.04	0	0.39±0.04	0.78±0.03

N =3

