

·工艺与制剂·

透皮特性结合正交试验优选麻芥平喘巴布剂有效组分的提取工艺

王晓瞳^{1,3}, 王雪茜^{1,3}, 屈会化^{2,3}, 孙晔^{1,3}, 冯会宾^{1,3},
赵琰^{1,3}, 孔慧^{1,3*}, 王庆国^{1,3*}

(1. 北京中医药大学基础医学院, 北京 100029; 2. 北京中医药大学科研实验中心, 北京 100029;
3. 北京中医药大学经典方剂的应用基础研究创新团队, 北京 100029)

[摘要] 目的: 优选麻芥平喘巴布剂的有效组分提取工艺。方法: 以盐酸伪麻黄碱、苦杏仁苷的提取率和透过率为综合评价指标, 采用正交试验优选提取工艺, 提取物用 Franz 扩散池法进行体外透皮试验, HPLC 测定伪麻黄碱、苦杏仁苷含量。结果: 麻芥平喘有效组分的最佳提取工艺为加 6 倍量 80% 乙醇回流提取 2 次, 每次 1.5 h。结论: 结合药效学指标优选的提取工艺符合实际应用需求, 为麻芥平喘巴布剂的临床推广提供依据。

[关键词] 麻芥平喘巴布剂; 有效组分; 提取工艺; 伪麻黄碱; 苦杏仁苷; 透皮试验

[中图分类号] R283.6, R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)15-0001-04

[doi] 10.11653/syfq2013150001

Optimization of Extraction Technology for Effective Ingredients from Majie Pingchuan Cataplasma by Orthogonal Test and Transdermal Characteristic Investigation

WANG Xiao-tong^{1,3}, WANG Xue-qian^{1,3}, QU Hui-hua^{2,3}, SUN Ye^{1,3},
FENG Hui-bin^{1,3}, ZHAO Yan^{1,3}, KONG Hui^{1,3*}, WANG Qing-guo^{1*}

(1. School of Basic Medical Sciences, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;
2. Center of Scientific Experiment, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;
3. Innovative Team of Application of Classical Prescriptions of Traditional Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction technology of effective ingredients from Majie Pingchuan cataplasma. **Method:** With extraction rate and transmittance of amygdalin and pseudoephedrine hydrochloride as comprehensive evaluation index, extraction technology was optimized by orthogonal test, transdermal test of extract was adopted by Franz diffusion cell, the contents of amygdalin and pseudoephedrine hydrochloride were determined by HPLC. **Result:** Optimum extraction process was as following: reflux extracted 2 times with 6-fold the amount of 80% ethanol, 1.5 h per time. **Conclusion:** Optimized technology met actual application requirements by combining with pharmacodynamic index, it could provide basis for clinical practice of Majie Pingchuan cataplasma.

[收稿日期] 20130313(012)

[基金项目] 国家科技重大专项“重大新药创制”项目(2009ZX09103201); 北京中医药大学经典方剂的应用基础研究创新团队(0100603010)

[第一作者] 王晓瞳, 博士, 从事中医临床基础研究, Tel: 010-64286705, E-mail: antornia_wong@yahoo.com.cn

[通讯作者] * 孔慧, 博士后, 从事经典方剂的现代中药研究, Tel: 010-64286705, E-mail: doris7629@126.com;

* 王庆国, 博士, 教授, 从事中医临床基础研究, E-mail: wangqg8558@sina.com

[Key words] Majie Pingchuan cataplasma; effective ingredients; extraction process; pseudoephedrine; amygdalin; transdermal test

麻芥平喘源于清代《张氏医通》所载白芥子涂方,由麻黄、苦杏仁、白芥子、延胡索和生姜组成,通过外敷穴位法治疗急慢性哮喘,疗效显著^[1]。方中麻黄功能发汗解表、宣肺平喘为君药,主要含有生物碱、黄酮等成分^[2];苦杏仁功能止咳平喘、润肠通便为臣药,主要成分为苦杏仁苷等^[3],白芥子主治寒痰喘咳、胸胁胀痛、痰滞经络,同为方中臣药^[4];延胡索、生姜分别为佐、使药^[5-6]。临床使用方法为麻黄等药味研碎,加生姜汁调为糊状,涂于双侧肺俞、心俞和膈俞。给药方法需用现配,使用不方便,且易污染衣物。本实验拟将其改制巴布剂,通过综合评价提取率与透皮率,确定最佳提取工艺参数,为麻芥平喘巴布剂的临床推广提供依据。

1 材料

Agilent 1260 型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司),BT 125D 型电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司),TK-6A 型 Franz 改良扩散仪(上海铂凯科技贸易有限公司)。

麻黄(伪麻黄碱 1.75%)、苦杏仁(苦杏仁苷 1.78%)、白芥子、延胡索均购自北京同仁堂药材有限责任公司,经北京中医药大学药学院刘春生教授鉴定,均符合 2010 年版《中国药典》相关项下要求。伪麻黄碱、苦杏仁苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 171237-200304,110820-201004),HPLC 所用试剂为色谱纯,其他试剂均为市售分析纯。

SD 小鼠,8 周龄,雄性,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,许可证号 SCXK(京)2012-0001。

2 方法及结果

2.1 提取工艺考察^[7-11] 在预试验及查阅文献基础上,选取乙醇体积分数、提取时间和提取次数为考察因素。按处方比例称取麻黄、白芥子、苦杏仁、延胡索共 40 g,固定加 6 倍量溶剂回流提取,滤过,浓缩,干燥,测定盐酸伪麻黄碱及苦杏仁苷含量,计算提取率。

2.2 透皮试验样品制备 取乙醇提取溶液,于 60 ℃减压回收乙醇至清膏,置 80 ℃水浴锅上浓缩至稠膏,减压干燥(-0.08 MPa,60 ℃),粉碎得细粉,备用;称取处方量生姜,粉碎,挤出汁液,离心(8 000 r·min⁻¹,5 min),取上清液,加至干膏粉中,搅拌均匀,即得糊状样品。

2.3 体外透皮试验 按文献[12]方法制备小鼠皮肤,采用 Franz 装置(接受池体积 6.5 mL,接受池有效接触面积 2.8 cm²)^[13],固定装置,将 30% 乙醇生理盐水^[14]加入接受池。取离体鼠皮将真皮层一侧面向接受池,确保无起泡存在,剪去多余皮肤,将麻芥平喘糊状样品涂于离体鼠皮角质层一侧,顶端用湿的无纺布封口。水浴恒温至(32 ± 1) ℃^[15],电磁恒速搅拌(200 r·min⁻¹),分别于 1,2,4,6,8 h 取样,每次取 0.5 mL,同时立即补充 0.5 mL 接受液,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液进样,记录峰面积,计算累计透过量(Q_n)^[16]。

计算公式:

$$Q_n = (C_n \times V_0 + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \times V) / A$$

其中 C_n 表示第 n 个取样点测得的质量浓度, C_i 表示第 i 个取样点测得的质量浓度, V₀ 表示接受池体积, V 表示每次取样体积, A 表示释药面积。以 Q_n 对时间 t^{1/2} 作线性回归,所得直线斜率即为平均释放速率(K_p)。

2.4 盐酸伪麻黄碱和苦杏仁苷的含量测定^[17]

2.4.1 色谱条件 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),流动相乙腈-水(含 0.1% 磷酸)(8:92),柱温 30 ℃,流速 1.0 mL·min⁻¹,进样量 20 μL。

2.4.2 标准曲线的制备^[18] 精密称取盐酸伪麻黄碱对照品 7.5 mg,加甲醇溶解并定容至 25 mL,制成 0.302 8 g·L⁻¹ 对照品溶液,精密吸取该溶液 0.5, 2, 4, 6, 8 mL 至 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,进样,按上述色谱条件测定,以峰面积为纵坐标,进样质量浓度为横坐标,得标准曲线 Y = 18 597 X + 87.278 (r = 0.999 3),线性范围 0.015 1 ~ 0.302 8 g·L⁻¹。以相同方法配制 0.318 4 g·L⁻¹ 的苦杏仁苷对照品溶液,精密吸取 0.5, 2, 4, 6, 8 mL 至 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,进样,测定,以峰面积对进样质量浓度进行线性回归,得标准曲线 Y = 11 841 X + 12.801 (r = 0.999 1),线性范围 0.015 9 ~ 0.318 4 g·L⁻¹。

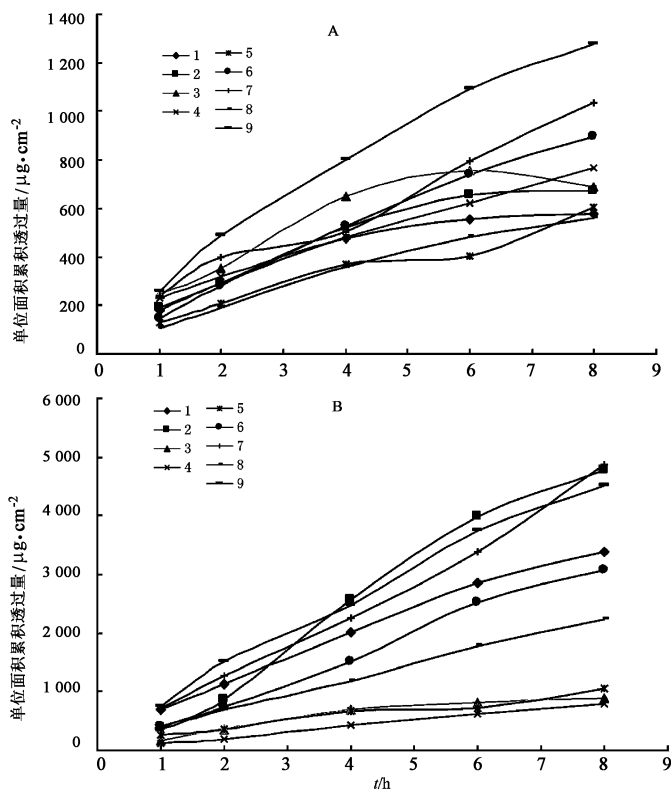
2.4.3 精密度和回收率试验 收集 30% 乙醇生理盐水透皮渗透液作为空白溶剂,另分别取 0.5 mL 盐酸伪麻黄碱和苦杏仁苷对照品溶液置 5 mL 量瓶内,加空白溶剂至刻度,摇匀,经 0.45 μm 微孔滤膜滤

过,测定,计算盐酸伪麻黄碱和苦杏仁苷在透皮液中回收率分别为 $(97.97 \pm 2.31)\%$, $(98.39 \pm 2.86)\%$ $(n=6)$,RSD分别为2.36%,2.91%。取其中1份样品连续进样6次,计算精密度RSD 1.03%,表明仪器精密度良好。

2.5 正交试验优选 以盐酸伪麻黄碱、苦杏仁苷的提取率和透皮率为综合评价指标,权重系数均为0.25,采用SPSS 16.0软件分析数据,试验安排及结果见表1,方差分析见表2,伪麻黄碱和苦杏仁苷的累积透皮曲线见图1。

表1 麻芥平喘巴布剂的提取工艺优选正交试验安排及结果

No.	A 乙醇体积分数 /%	B 提取时间 /h	C 提取次数	D (空白)	伪麻黄碱 提取率 /%	伪麻黄碱 总透皮率 /%	苦杏仁苷 提取率 /%	苦杏仁苷 总透皮率 /%	综合 评分
1	60	0.5	1	1	0.69	64.06	0.68	41.14	69.85
2	60	1.0	2	2	1.31	38.28	1.41	22.87	72.72
3	60	1.5	3	3	1.62	31.96	1.29	17.68	69.63
4	70	0.5	2	3	1.06	54.02	0.81	32.93	69.80
5	70	1.0	3	1	1.41	32.11	1.35	15.15	66.46
6	70	1.5	1	2	0.96	69.98	0.89	40.27	79.33
7	80	0.5	3	2	1.38	59.06	1.07	40.92	85.75
8	80	1.0	1	3	0.91	45.92	0.58	28.32	57.42
9	80	1.5	2	1	1.37	72.05	1.14	41.38	91.96
K_1	212.20	225.40	206.60	228.27					
K_2	215.59	196.60	234.48	237.80					
K_3	235.13	240.92	221.84	196.85					



A. 盐酸伪麻黄碱;B. 苦杏仁苷

图1 麻芥平喘巴布剂样品的累积透皮曲线

表 2 综合评分方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	102.121	2	51.06	0.334	>0.05
B	337.175	2	168.587	1.102	>0.05
C	129.925	2	64.962	0.424	>0.05
D(误差)	306.104	2	153.052		

注: $F_{0.05}(2,2) = 19$ 。

从直观分析可知,各因素对提取工艺的影响顺序为 $B > C > A$ 。方差分析表明 3 个因素对提取工艺均无显著性影响,确定最佳提取工艺为 $A_3B_3C_2$,即加 6 倍量 80% 乙醇回流提取 2 次,每次 1.5 h。

3 讨论

优选麻芥平喘巴布剂的提取工艺时,考虑到透皮给药制剂只有透过皮肤屏障的成分才能发挥药理作用,如仅以提取率为指标,可能会造成提取率很高,但透过皮肤的性能很差,起不到相应的药效,违背了优选工艺的初衷。故在提取工艺优选中以君药麻黄中盐酸伪麻黄碱和臣药苦杏仁中苦杏仁苷为指标,考察二者的提取率和透皮性能,使优选的工艺更具有临床意义^[19]。

[参考文献]

[1] 郭燕蓉,朱蔚,郑媛,等. 中药穴位敷贴治疗支气管哮喘的研究进展[J]. 中国中医药现代远程教育,2010,8(10):204.

[2] 丽丽,施松善,崔健,等. 麻黄化学成分与药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志,2006,31(20):1661.

[3] 李贵海,董其宁,孙付军,等. 不同炮制对苦杏仁毒性及止咳平喘作用的影响[J]. 中国中药杂志,2007,32(12):1247.

[4] 王传金,刘玉全. 白芥子中白芥子苷提取工艺的研究[J]. 中药材,2001,24(6):426.

[5] 汤法银,聂爱国,李艳玲. 中药延胡索的研究进展[J]. 临床和实验医学杂志,2006,5(2):185.

[6] 王颖,李东伟. 生姜的研究进展[J]. 中国药业,2006,15(9):62.

[7] 沈红,狄留庆,黄耀洲. 不同提取方法对麻黄中麻黄碱提取得率的比较研究[J]. 南京中医药大学学报,2004,20(3):170.

[8] 王力生,邹节明,袁伟恩,等. 苦杏仁的炮制及有效成分提取和分析进展[J]. 分析测试技术与仪器,2005,11(1):34.

[9] 王晓玲,许丽,胡利华,等. 正交试验法优选白芥子延胡索甘遂合并提取的工艺[J]. 解放军药学学报,2005,11(1):34.

[10] 林武霖,王如伟,孙柳燕. 延胡索质量控制的研究进展[J]. 中草药,2011,42(2):409.

[11] 陈象青,刘圣,方焱,等. 多指标正交试验优选当归提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(8):25.

[12] 铁茹,刘利兵,李旭波,等. 硫化钠脱毛剂最佳脱毛浓度的探讨[J]. 陕西医学杂志,2009,38(10):1283.

[13] 张丽峰,苏畅,谢茵,等. 促渗剂对复方黄芩巴布剂透皮吸收的影响[J]. 中国药房,2007,18(33):2582.

[14] 李飞,杨小林,杨中林. 芦柑皮挥发油等对胡椒碱促透作用研究[J]. 中医药学报,2010,38(2):97.

[15] 邹玉繁,汪小根. 广藿香酮巴布剂体外释放度与体外透皮相关性研究[J]. 时珍国医国药,2012,23(1):48.

[16] 刘容飞,谢燕,袁秀荣. 风灵凝胶中秋水仙碱的体外透皮特性[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(11):22.

[17] 韩桂茹,赵志军,黄占群,等. 药材、制剂、半成品中麻黄碱、伪麻黄碱和苦杏仁苷的同时定量研究[J]. 中成药,2005,27(4):419.

[18] 林桂涛,盛华刚,张超,等. 复方蟾酥镇痛巴布膏剂体外透皮吸收研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(9):1.

[19] 贾晓斌,黄洋,陈斌,等. 药效学结合正交试验优选通脉颗粒抗心肌缺血成分的提取工艺研究[J]. 中国中药杂志,2011,36(2):154.

[责任编辑 全燕]