

參、結果與討論

一、 Huperzine A 基本理化性質、分析方法及確效

(一) 紫外線-可見光吸收光譜

將 huperzine A 以甲醇作為溶劑測得之紫外線-可見光吸收光譜圖如圖 6 所示，其明顯較大的吸收波長為 232 nm 及 307 nm。選擇較高波長 307 nm，huperzine A 濃度與吸光值的關係圖，如圖 7，其顯示良好之線性關係 ($R^2 > 0.999$)。表示波長 307 nm 適用，故 huperzine A 在高效液相層析法中採用 307 nm 為檢測波長。

(二) 紅外光光譜分析

Huperzine A 之紅外光光譜圖，如圖 8 所示。波數 3500 cm^{-1} 附近有 N-H 的伸縮振動吸收峰；波數 3000 cm^{-1} 附近有飽和氫 (C-H) 的伸縮振動吸收峰；波數 1650 cm^{-1} 處有 C=O 的伸縮振動吸收峰。

(三) 質譜分析 (EI-MS)

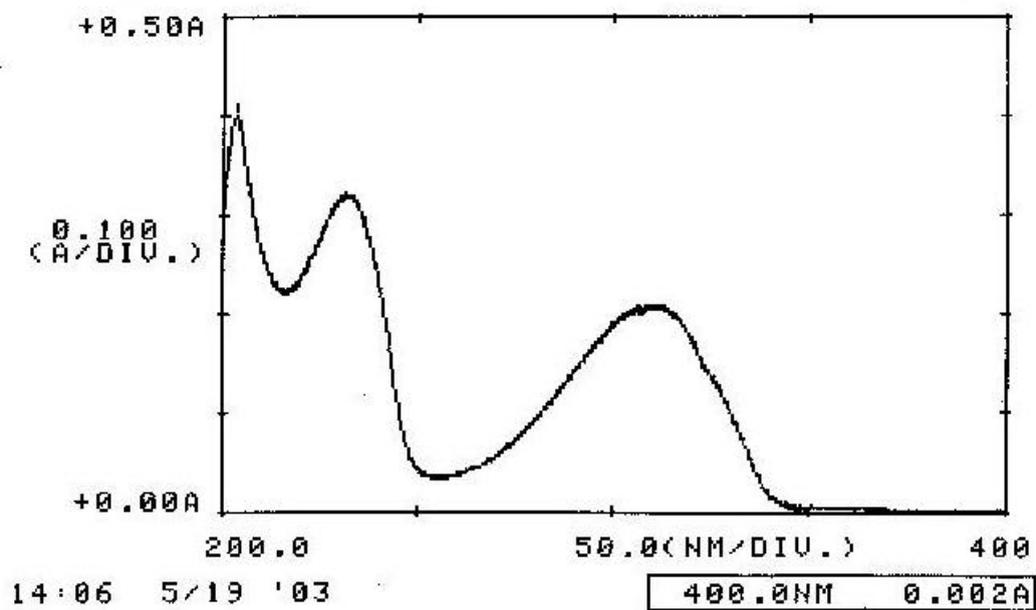
Huperzine A 之質譜分析圖譜，如圖 9 所示，分子離子峰為 m/z 358 [M]⁺。

(四) 熔點測定

Huperzine A 之熔點範圍在 228 230 之間。

(五) Huperzine A 原料之純度檢測

Huperzine A 評估純度之檢測波長設定在低波長 200 nm，計算主峰與其他雜訊質之含量百分比，如圖 10，主峰的純度為 99.41%。與分析報告書相同。



Peak	ABS
307	0.212
232	0.269
204	0.296

圖 6 Huperzine A 之紫外線-可見光吸收光譜圖

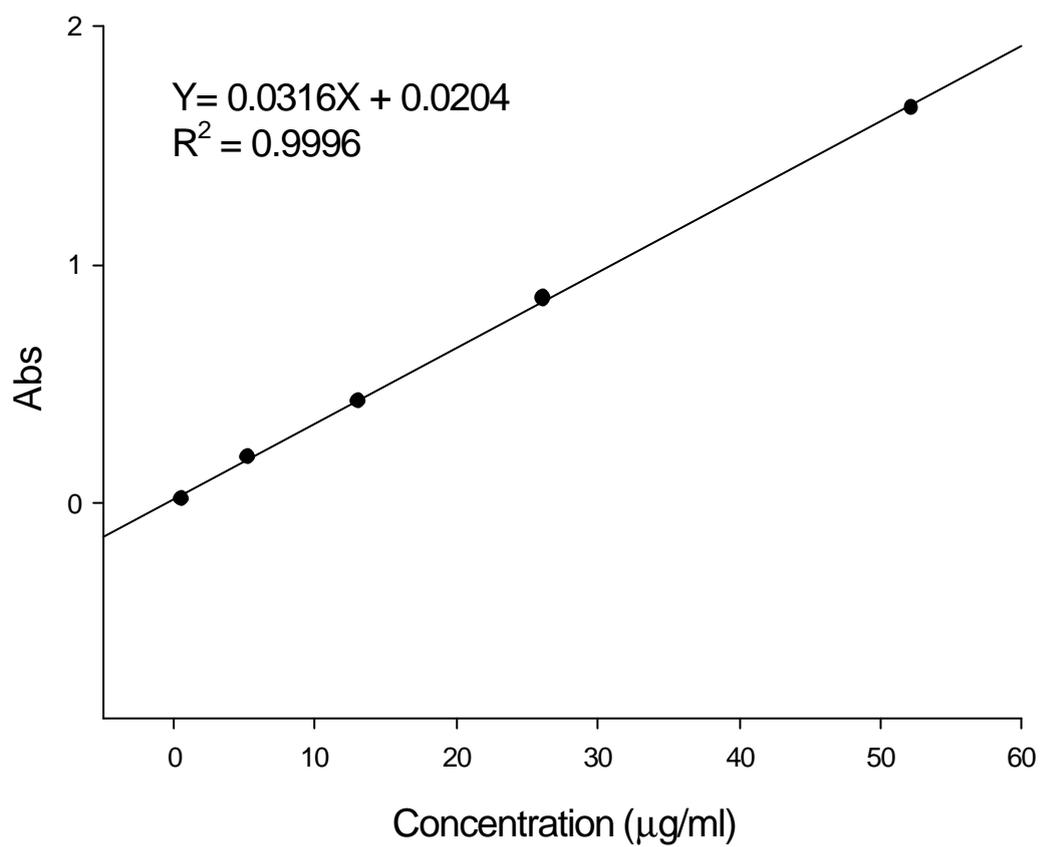


圖 7 Huperzine A 之標準曲線(紫外光光譜法，波長 307 nm)

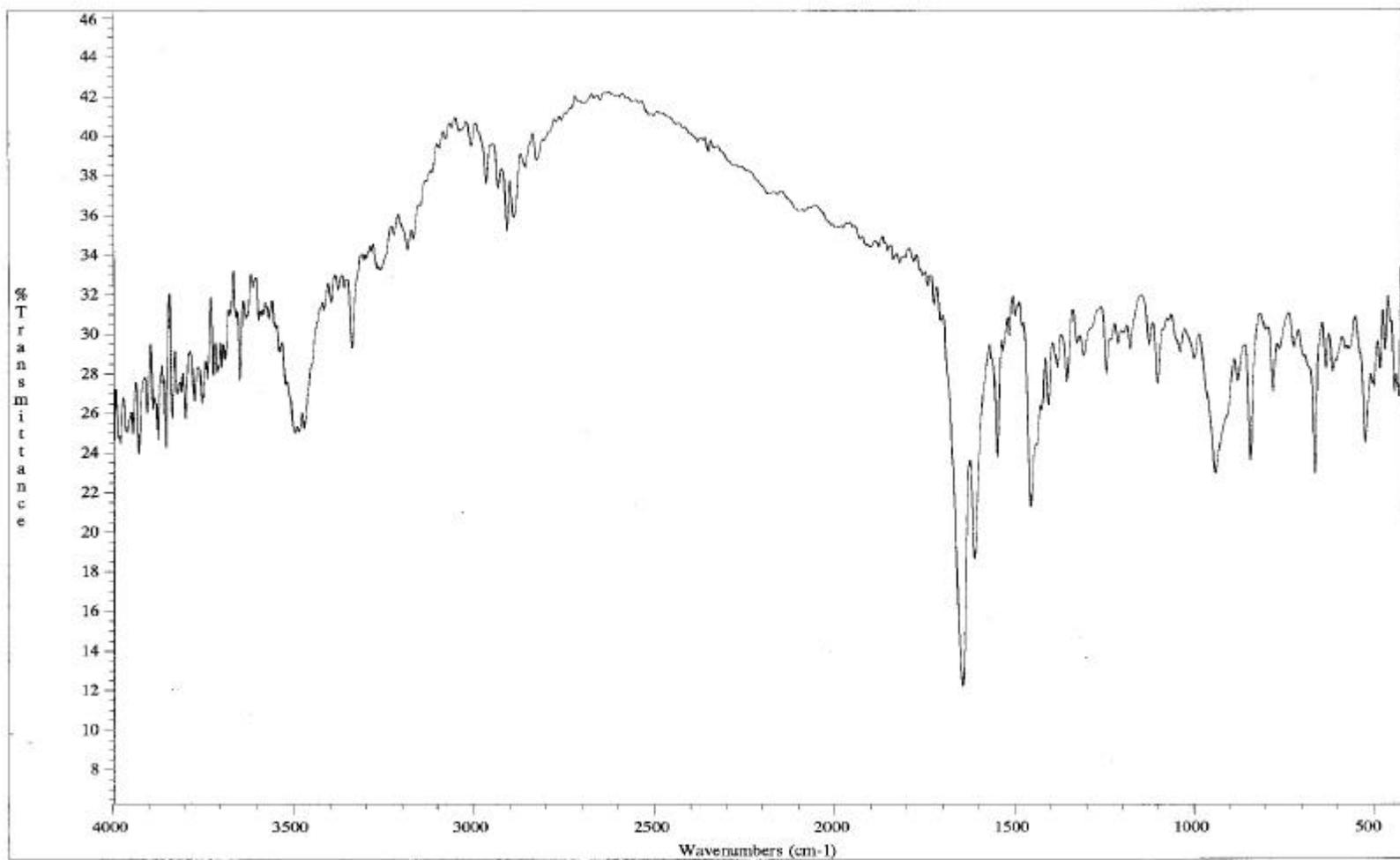


圖 8 Huperzine A 之紅外光光譜圖

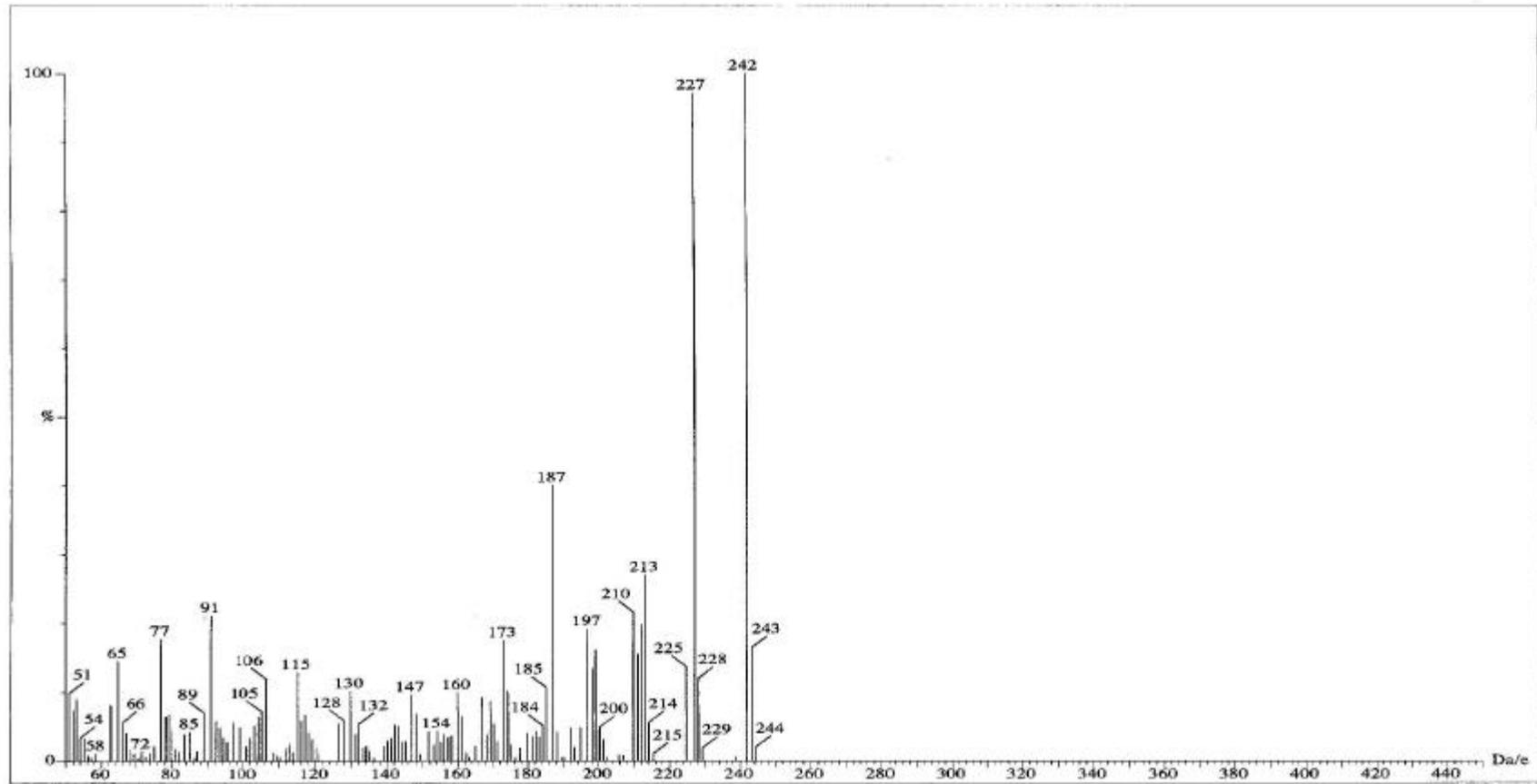


圖 9 Huperzine A 之質譜分析圖

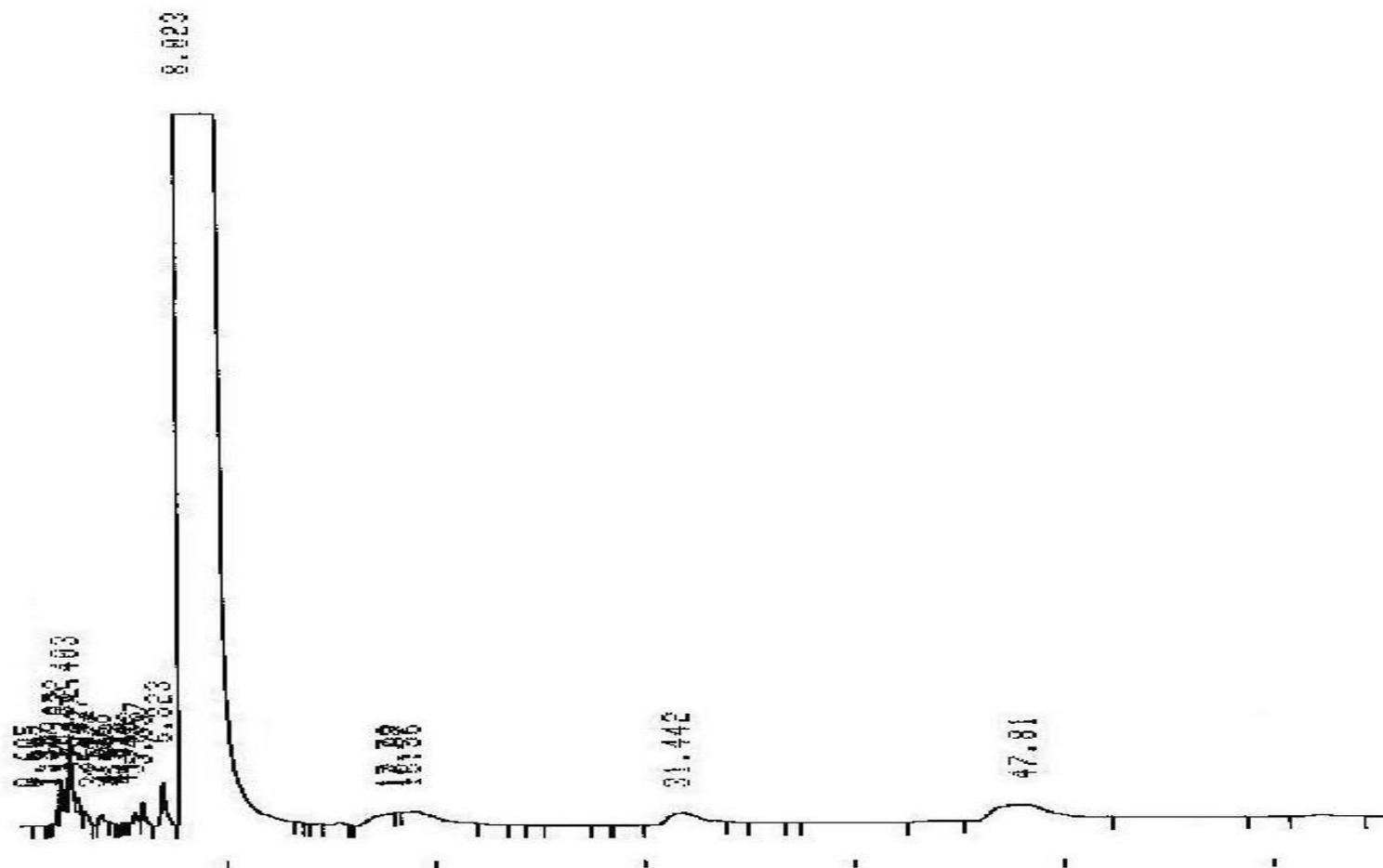


圖 10 以 HPLC 檢測 Huperzine A 原料之純度(波長 200 nm)

(六) 分析方法及確效

1、移動相的組成

尋找有效的分析方法與適和的移動相，需建立一套移動相中 Acetonitrile 含量與 huperzine A 容積因子 (k') 的關係以及移動相 pH 值與滯留時間的關係。利用此關係發現到移動相中 Acetonitrile 含量越高，容積因子越低，最適合的有機相比例為 Acetonitrile 9% ~ 12% 之間，如圖 11 所示。利用有機相比例與 pH 值作調整，所得最佳條件為 Acetonitrile : 0.05M H_3PO_4 = 10 : 90 (V/V ; 含三乙胺 0.02%)。

2、標準曲線的建立

利用已確立之層析系統進行分析，將 huperzine A 調配成 0.625 ~ 50 μ g/ml 之濃度範圍內，進行標準曲線之製備，如圖 12 所示。其迴歸方程式為 $Y = 33789X - 637.25$ 相關係數大於 0.999，顯示相當良好的線性關係。

3、同日、異日精密度變異性的測定

於同日，各製備高、中、低三種濃度 (0.625、2.5、50 μ g/ml) 之樣品，依已確立之分析方法進行同日內精密度 (intra-day precision) 之測定。將濃度高、中、低之樣品，分別於早、中、晚各測定三次，以考驗本分析法之同日變異性。結果如表 9 所示，C.V. % 分別是 1.907%、1.910% 和 2.344%。

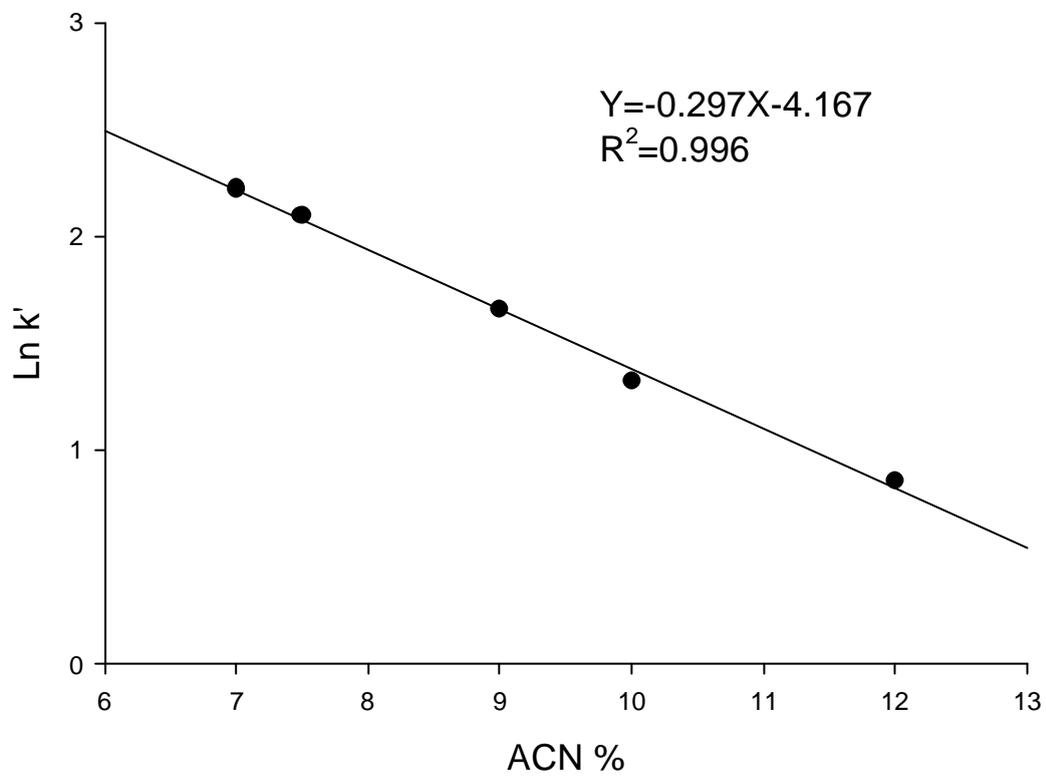


圖 11 HPLC 層析法移動相中 ACN 含量與 huperzineA 的容積因子 (Ln k') 之關係圖

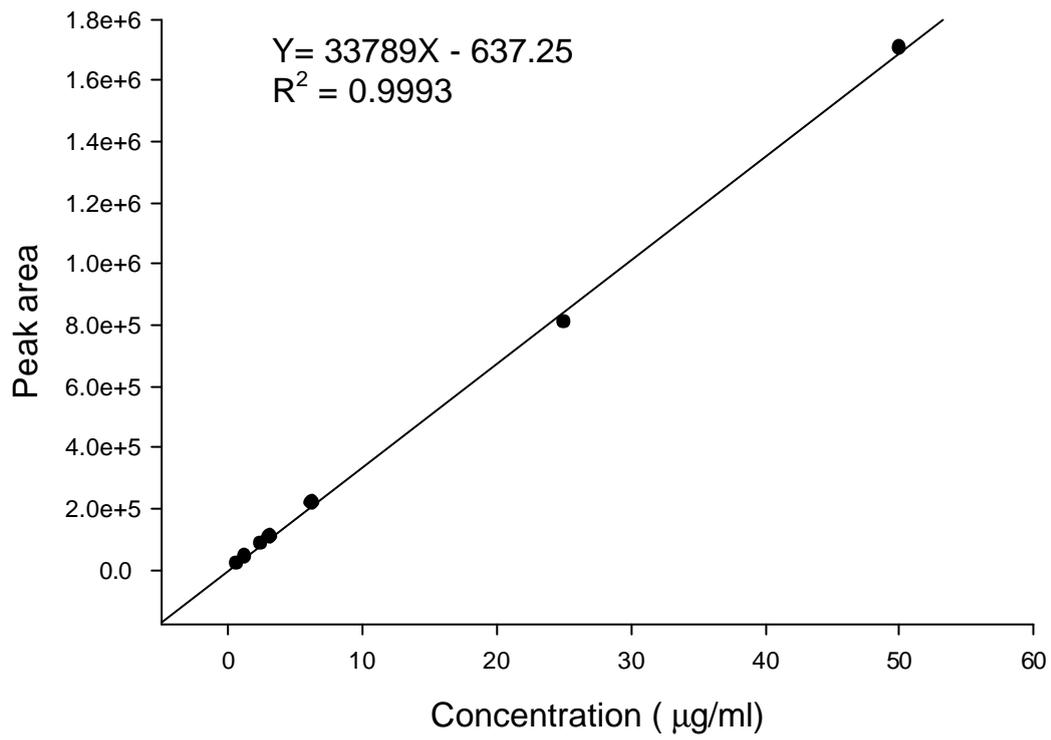


圖 12 Huperzine A 高效液相層析法之標準曲線

於不同日，各製備高、中、低三種濃度（0.625、2.5、50 µg/ml）
於不同日，各製備高、中、低三種濃度（0.625、2.5、50 µg/ml）
之樣品，依已確立之分析方法進行異日精密度（inter-day precision）
之測定，每種濃度試樣於早、中、晚各測定三次，進行分析三個不
同日期，以考驗本分析法之異日變異性。其結果如表 10 所示，C.V.
%分別是 2.71%、2.74%和 2.45%。

4、最低檢測濃度（LOD）與最低定量濃度（LOQ）試驗

最低檢測濃度試驗（Limit of Detection, LOD）是不斷地稀釋
huperzine A 至三種濃度 0.025、0.0625、0.125、µg/ml，以 HPLC
分析求得曲線下面積（Peak area），依此法重複作三次，分別將此
曲線下面積作線性迴歸，可得三個截距，如圖 13。求出截距的標準
差（ σ ），並採用標準曲線的斜率（S），參照 ICH 內容計算。

$$\text{回歸方程式為 } Y = 33789X - 637.25$$

$$\text{斜率為 } 33789 \quad \text{截距標準差 } (\sigma) = 77.108$$

$$\text{LOD} = 3.3 \times (\sigma / S) = 3.3 \times 77.108 / 33789 = 0.07531$$

$$\text{LOQ} = \text{LOD} \times 3 = 0.07531 \times 3 = 0.22592$$

所求得之最低偵測濃度為 7.531 ng/ml，最低定量濃度 22.592
ng/ml。

表 9 Huperzine A 高效液相層析法之同日內精密度試驗

Conc (µg/ml)	0.625	2.5	50
早	21500	84928	1686767
	20492	84515	1776421
	20435	85783	1662643
中	21420	82374	1752634
	20627	85390	1698499
	20652	85046	1736162
晚	20497	83617	1725566
	20907	84982	1695854
	20898	88358	1776421
平均	20825.33	84999.22	1723441
SD	397.08	1623.76	40399.34
CV (%)	1.91	1.91	2.34

表 10 Huperzine A 高效液相層析法之異日內精密度試驗

Conc (µg/ml)	0.625	2.5	50
Day 1	21671	87230	1704988
	21005	88380	1782753
	21324	86906	1786124
	22851	87971	1775171
	20822	90679	1730197
	22051	83391	1765326
	21077	82731	1672782
	21691	85833	1801828
	21243	84015	1753043
Day 2	21412	89752	1695845
	22601	87848	1760343
	21756	87698	1791058
	22127	85141	1758811
	22005	80187	1711824
	21228	84202	1808949
	22127	86316	1723010
	22005	84476	1685811
	20994	85083	1695636
Day 3	21500	84928	1686767
	21902	84515	1776421
	20944	85783	1662643
	21848	82374	1752634
	21041	85390	1698499
	21065	85046	1736162
	21937	83617	1725566
	21352	84982	1695854
	21361	88358	1776421
mean	21590.4	85660.44	1737573
SD	522.27	2350.38	42561.15
CV (%)	2.42	2.74	2.45

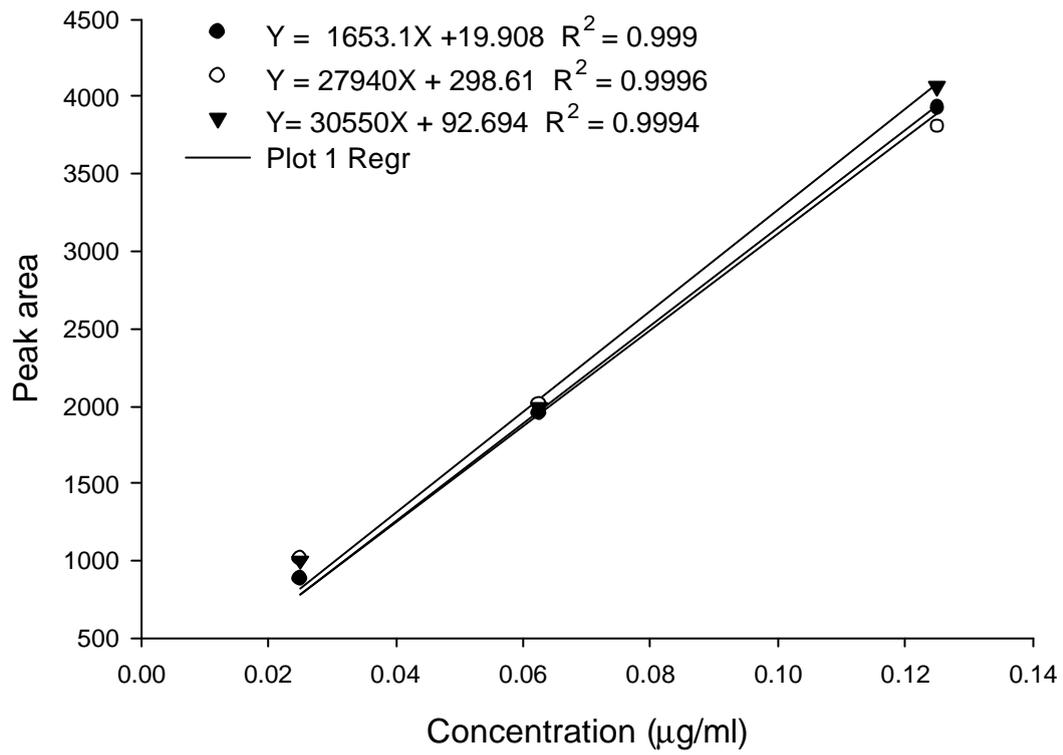


圖 13 Huperzine A 於低濃度 0.025-0.125 µg/ml 之標準曲線

5、安定性之分析方法

本研究採用高效液相層析法作為 huperzineA 安定性的分析方法，為確保此層析條件能將 huperzineA 與其分解產物完全分離，以可靠的評估 huperzineA 於各種情況下之安定性，故進行安定性分析方法之驗證。

將 huperzine A (15 µg/ml) 加入等體積之 0.1 N 稀鹽酸及 0.1 N 氫氧化鉀，於 60 °C 下進行分解，並進行層析法之系統適用性與層析峰純度之研究。

(1) 層析法之系統適用性 (System suitability test) 之訂定

以室溫下、不加酸鹼之檢品進行系統適用性，計算測試值如下：

a. 容積因子 (Capacity factor , k')

$$k' = \frac{8.75-1.89}{1.89} = 3.63$$

b. 對稱性 (Asymmetry factor , A_s)

$$A_s = \frac{0.28}{0.25} = 1.12$$

(2) 以二極體列陣檢測器檢測層析峰純度

採用 Hitachi-7455 二極體列陣檢測器，監測系統可以將結果設定為 Normalized 的形式，設定介於滯留時間之前後波谷，作為評估層析峰的純度。若層析峰內含有任何不純的物質時，不同滯留時間之吸光值很有可能會改變，經由 Normalized 後就無法重疊，以此方法確定此層析條件是否能完全將 huperzine A 及其分解產物完全分離。

二極體列陣檢測監測系統會對所存的資料自行比對，並顯示其層析峰純度的程度。驗證結果若層析峰的程度高時，電腦會給予最高的評估值 1；評估值越小，則表示檢品層析峰純度愈低。

本研究採酸、鹼、純水及過氧化氫於 60 °C 下之分解檢品進行二極體列陣檢測，結果如圖 14 圖 17 所示，皆達 0.990 以上之評估值，且經由 Normalized 後的圖形幾乎是重疊的情形，經電腦評估為高純度的層析峰。

分析方法經二極體列陣檢測驗證及系統評估，本研究之分析方法可確定 huperzine A 與其分解產物有良好的分離效果。此分析方法不僅適用於 huperzine A 之研究，亦可適用於製劑之品質管制。

(3) Huperzine A 之化學安定性

A、酸鹼效應之安定性

藥物之安定性會因為環境不同（溫度、pH 值）而改變，藥物的安定與否，會影響藥物的利用價值。反應速率與單位時間內有效定與否，會影響藥物的利用價值。反應速率與單位時間內有效碰撞

圖 14 Huperzine A 於 0.05 N 稀鹽酸及 60 °C 下，層析峰之純度圖

圖 15 Huperzine A 於 0.05 N 氫氧化鉀及 60 °C 下，層析峰之純度圖

圖 16 Huperzine A 於純水及 60 °C 下，層析峰之純度圖

圖 17 Huperzine A 於過氧化氫及 60 °C 下，層析峰之純度圖

的次數有關，當溫度升高時，碰撞次數亦隨之增加。

碰撞的次數有關，當溫度升高時，碰撞次數亦隨之增加。

本實驗旨在瞭解 huperzine A 反應速率受酸、鹼及純水溶液影響的情形。將 huperzine A 置於 0.05 N 稀鹽酸、0.05 N 氫氧化鉀及純水之溶液中，於 60 °C 下反應。實驗結果顯示，huperzine A 在 0.05 N 稀鹽酸環境下降解的情形明顯比快，純水次之，在鹼性下分解並不明顯。由此可知 huperzine A 的分解速率會因 pH 下降而變快。

將 huperzine A 剩餘濃度之自然對數 (Ln C %) 數值對時間作圖，如圖 18 所示。

B、含 3% H₂O₂ 溶液之安定性

觀察 huperzine A 於 3% H₂O₂ 溶液中，在 60 °C 為反應溫度時，反應速率受氧化劑催化影響的情形。將 huperzine A 反應後剩餘濃度之自然對數 (Ln C %) 數值對時間作圖，如圖 19 所示，在反應 27 小時後，只剩 3.75%，反應呈直線關係。

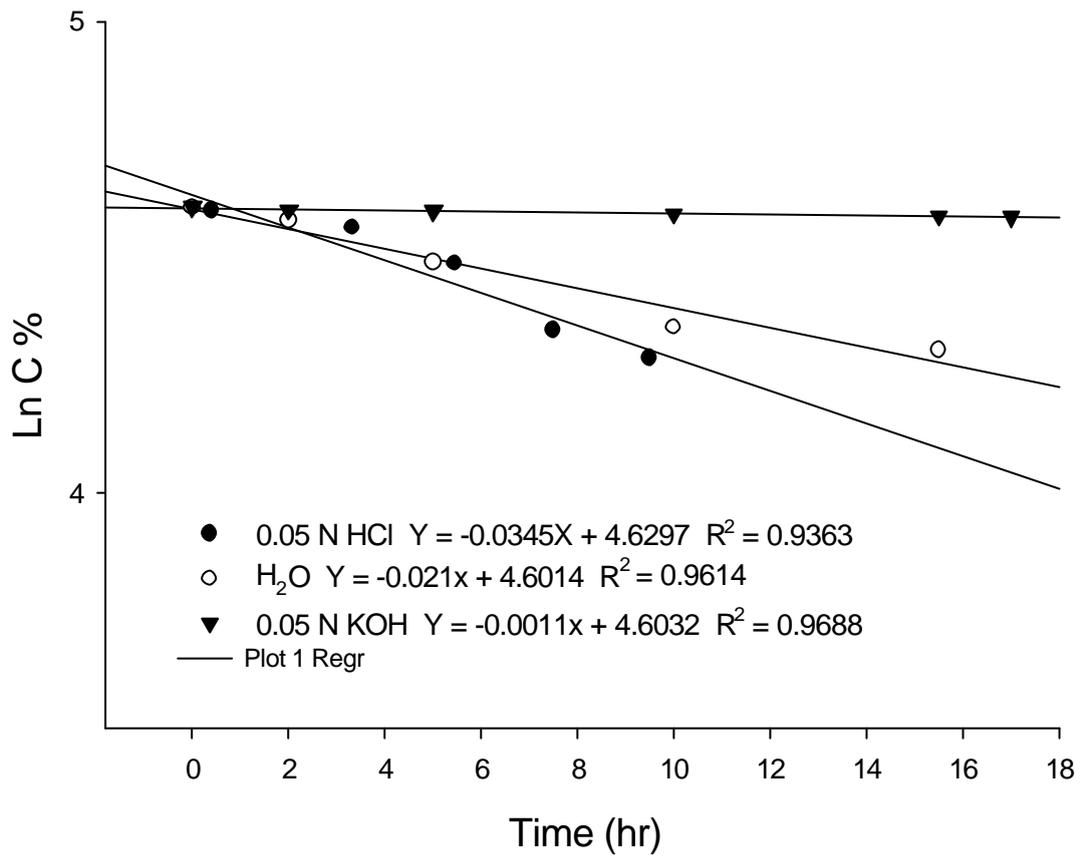


圖 18 Huperzine A 於 60 下，不同溶液之分解動力圖

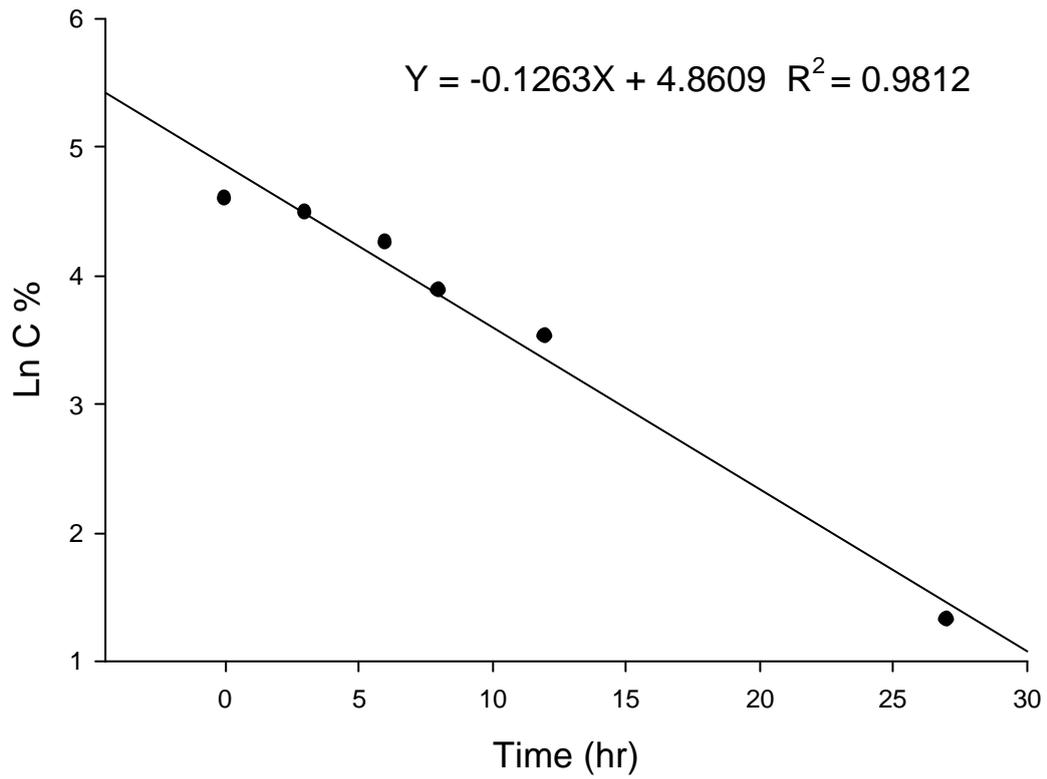


圖 19 Huperzine A 於 3% 過氧化氫溶液及 60 °C 下之分解動力圖

二、穿山龍層析指紋圖譜之建立與確效

將萃取之穿山龍溶液用 0.45 μm 濾膜過濾後，以高效液相層析儀搭配 Photodiode array 檢測器或 UV 檢測器，做為化學指紋圖譜測定之儀器，其層析管柱為 C-18。

圖 20 至圖 23 為穿山龍用高效液相層析法以 PDA 作為檢測器所做出來的四種波長層析圖，波長分別為 210、254、280 及 500 nm，發現以波長 254 nm 所做出來的層析圖譜最佳，故選擇此波長作為分析方法之確效。

圖 24 至圖 26 為穿山龍在異日間以 UV 254 nm 為波長確效所得之分析結果，得知在此層析條件下，穿山龍能有好的分離效果。表 11 至表 13 的同日及異日間的方法確效，其各指紋層析峰之面積在此分析條件下，不論在同日或異日確效試驗中，發現層析峰有 13 根之變異係數均在 8 % 以內。

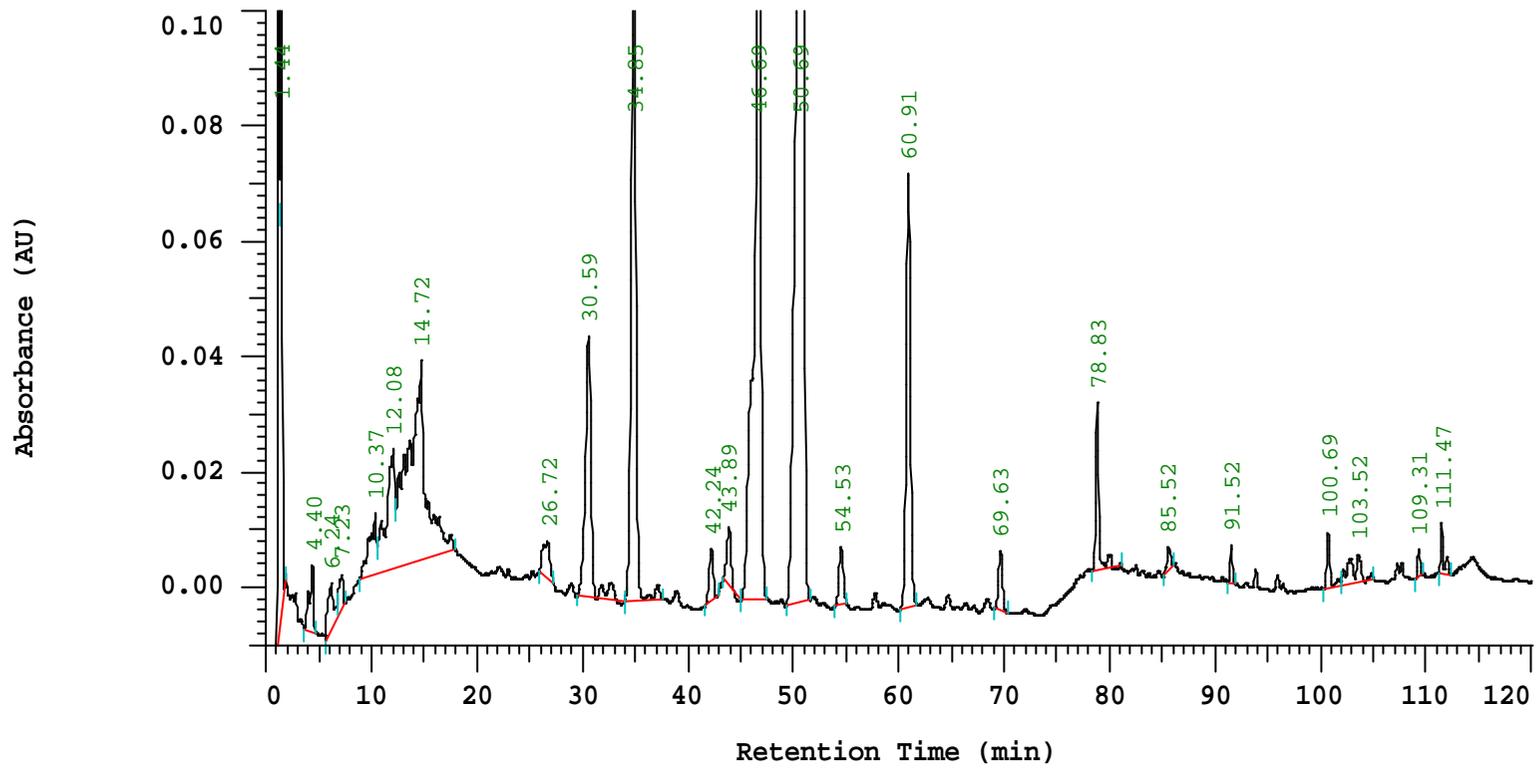


圖 20 穿山龍 HPLC 之 PDA 層析圖 (波長 210 nm)

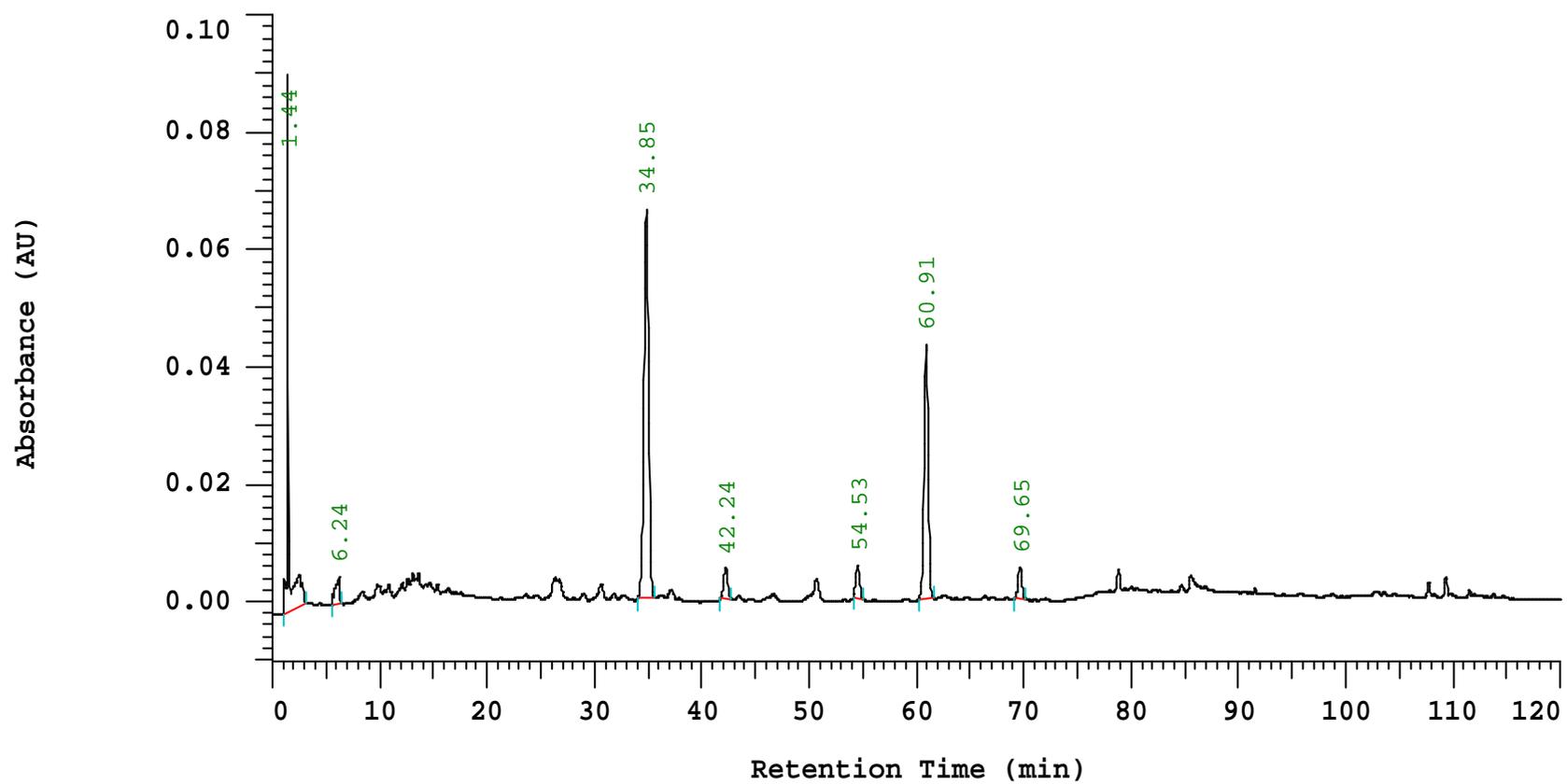


圖 21 穿山龍 HPLC 之 PDA 層析圖 (波長 254 nm)

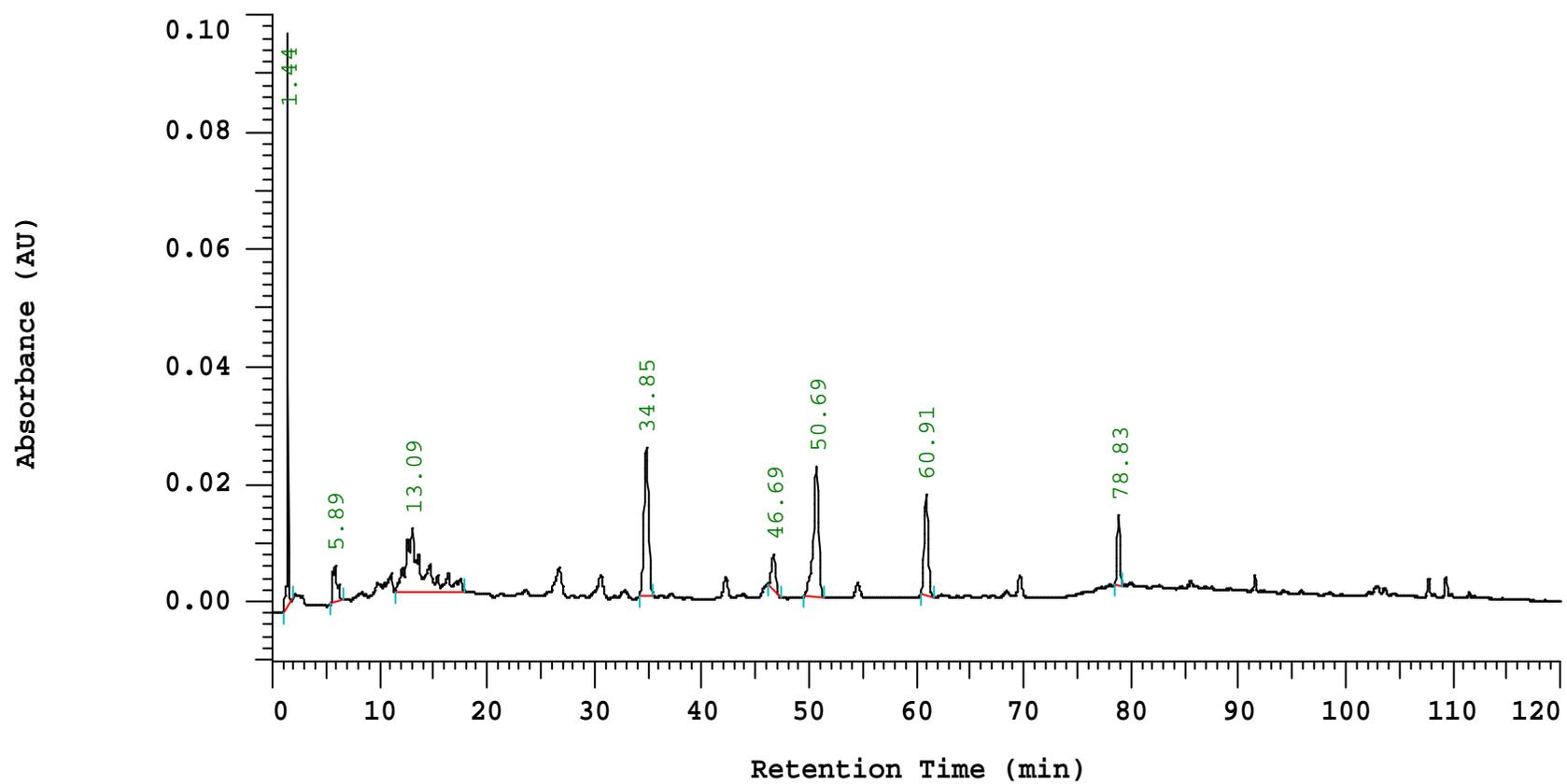


圖 22 穿山龍 HPLC 之 PDA 層析圖 (波長 280 nm)

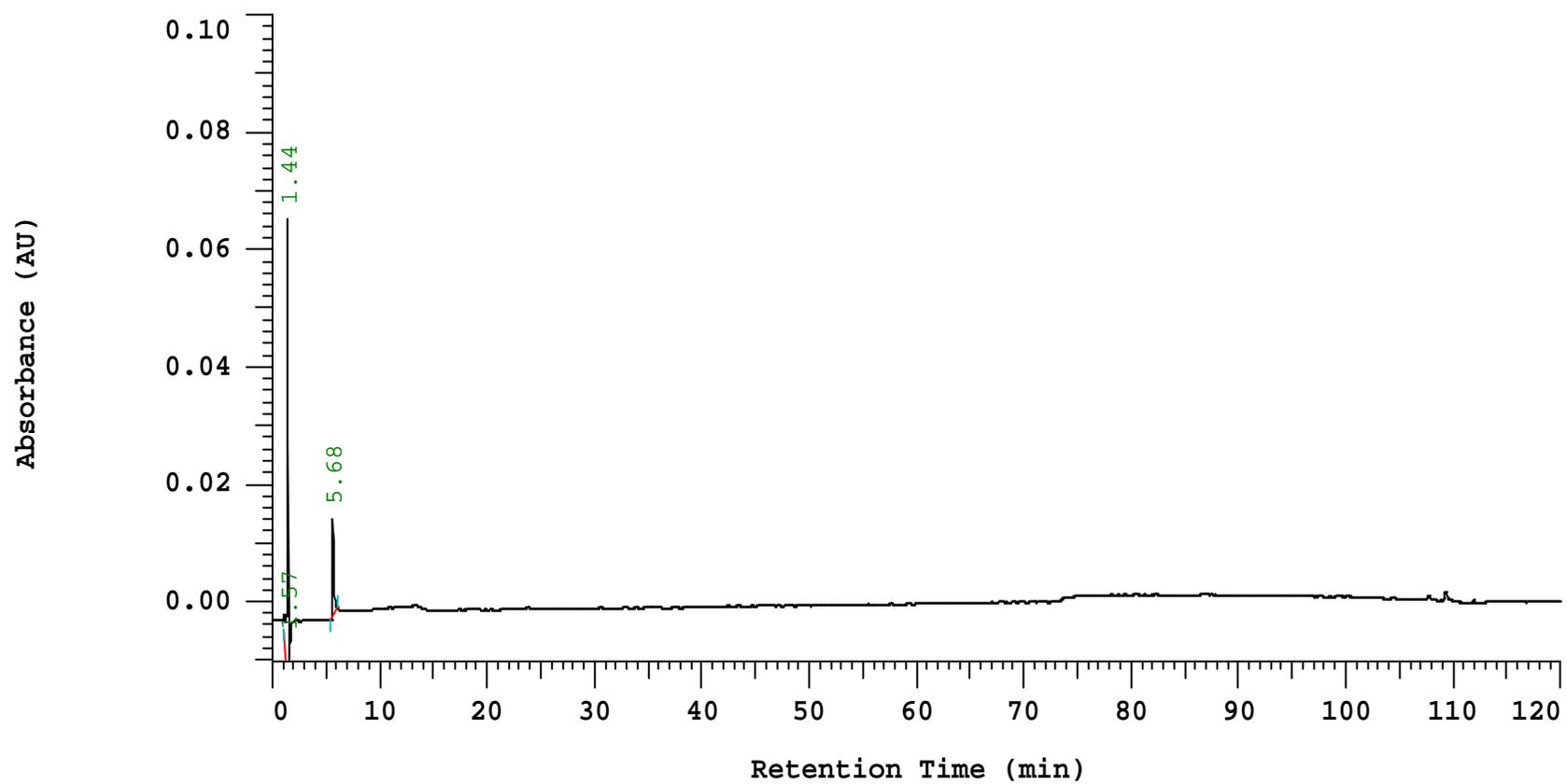


圖 23 穿山龍 HPLC 之 PDA 層析圖 (波長 500 nm)

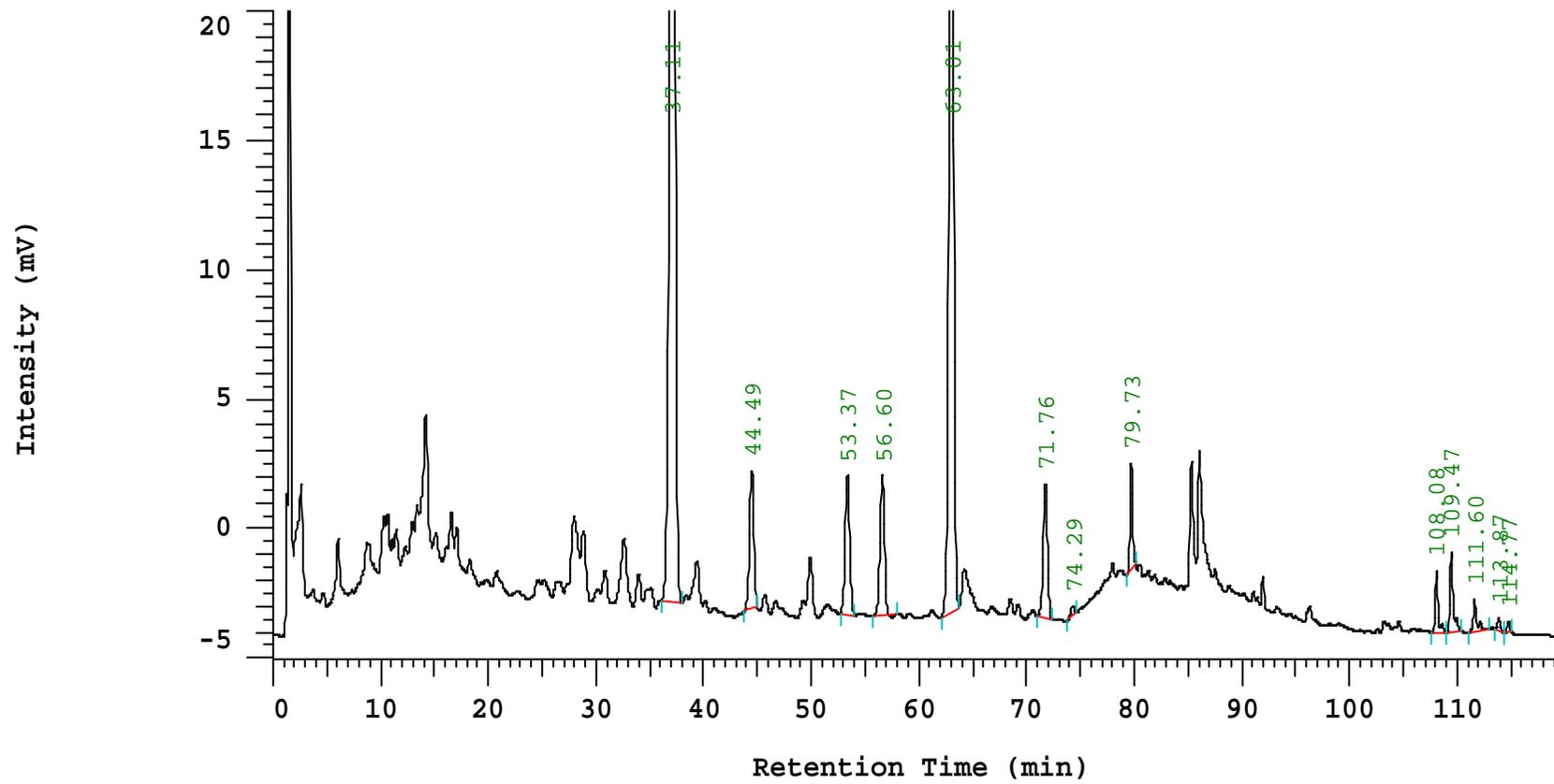


圖 24 穿山龍 HPLC 層析圖 I (C.V. <8 %)

表 11 穿山龍於高效液相層析圖中各層析峰面積之再現性 I (C.V. <8 %)

No.	RT.	1	2	3	4	5	6	Average	S.D.	C.V.
1	37.11	1818054	1805788	1816844	1816110	1799890	1811283	1811328	7211.86	0.40
2	44.49	149283	146217	148485	144786	140634	141055	1450767	3649.82	2.52
3	53.37	150235	148848	148560	147912	146781	146508	1481407	1387.73	0.94
4	56.6	149651	145891	147174	147065	140616	144154	145758	3095.14	2.12
5	63.01	1026064	1005743	1084646	1074368	1112956	1127883	1071943	47887.20	4.47
6	71.76	149385	139473	147676	147739	140273	142412	144493	4288.10	2.97
7	74.29	7490	7037	7344	7038	6965	6715	7098	277.81	3.91
8	79.73	64976	64511	66489	65770	69189	70828	66960	2510.05	3.75
9	108.08	42366	41102	42473	41110	42402	41453	41817	665.96	1.59
10	109.47	61273	57604	61718	59134	62123	59091	60157	1802.67	3.00
11	111.6	27973	27281	26187	30610	26895	28067	27835	1528.39	5.49

12	113.87	8377	8743	8522	8692	9194	8440	8661	296.85	3.43
13	114.77	8456	8779	8674	8808	8743	8646	8684	127.60	1.47

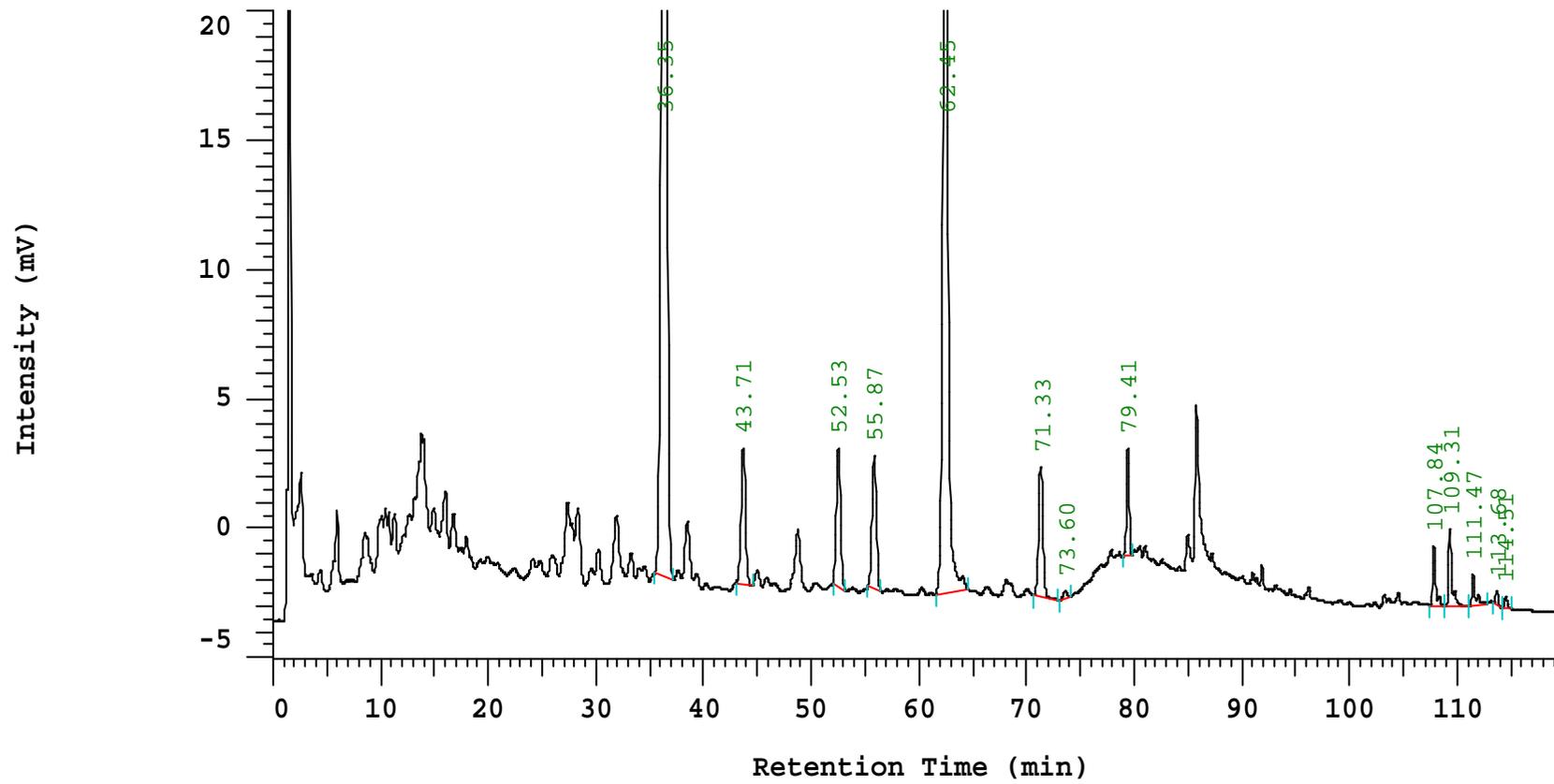


圖 25 穿山龍 HPLC 層析圖 II (C.V. <8%)

表 12 穿山龍於高效液相層析圖中各層析峰面積之再現性 II (C.V. <8 %)

No.	RT	1	2	3	4	5	6	Average	S.D.	C.V.
1	36.35	1787249	1786428	1803001	1816905	1812485	1835777	180697	18897.6	1.05
2	43.71	139125	140945	142299	147987	143468	146318	143357	3318.54	2.31
3	52.53	143866	143076	143837	144593	139890	141389	142775	1786.51	1.25
4	55.87	138717	137360	138816	138938	138976	140866	138945	1120.01	0.81
5	62.45	1119419	1116683	1120179	1055429	1034496	1026284	1078748	44864.7	4.16
6	71.33	137748	140404	149521	149830	145644	148410	14525	5081.77	3.50
7	73.6	6852	6989	7188	6705	6736	6307	67967	298.35	4.39
8	79.41	69804	70808	67389	65706	64496	65068	67211	2604.70	3.88
9	107.84	42016	41526	40729	39368	40022	40070	40621	1000.91	2.46
10	109.31	61097	61006	58771	58508	59156	59606	59690	1117.62	1.87
11	111.47	25739	26077	25759	25412	25278	26502	25794	446.72	1.73
12	113.68	8570	8361	8165	8738	8407	8538	8463	197.51	2.33
13	114.51	8714	8736	8521	8982	8528	8727	8701	169.33	1.95

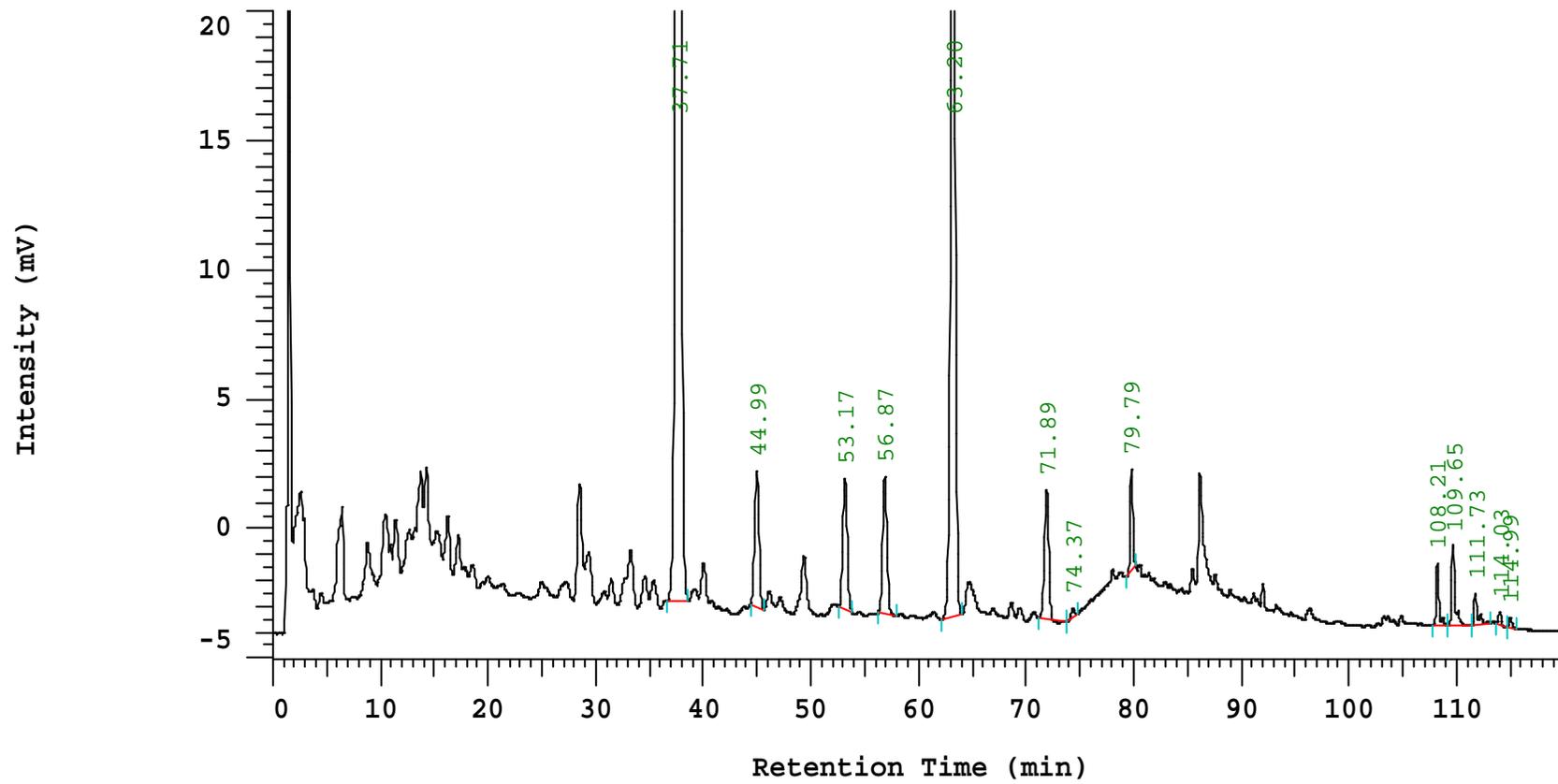


圖 26 穿山龍 HPLC 層析圖 III (C.V. <8%)

表 13 穿山龍於高效液相層析圖中各層析峰面積之再現性 III (C.V. <8 %)

No.	RT	1	2	3	4	5	6	Average	S.D.	C.V.
1	37.71	1796190	1797744	1796580	1787100	1807515	1794969	1796683	6534.27	0.36
2	44.99	143230	141924	146420	150367	151951	151207	147516	4295.63	2.91
3	53.17	138357	134685	139039	137489	133882	134336	136298	2256.52	1.66
4	56.87	139641	141924	137733	137432	137275	138366	138728	1786.61	1.29
5	63.2	1024148	1027421	1056338	1094408	1086777	1100514	1064934	33930.47	3.19
6	71.89	142607	146033	138468	138018	139026	138923	140512	3162.33	2.25
7	74.37	7195	6675	7062	6694	6553	6947	6854	251.57	3.67
8	79.79	63163	68252	65404	65386	66216	66703	65854	1689.10	2.56
9	108.21	41950	41051	41359	40937	40382	41980	41276	619.93	1.50
10	109.65	63620	60410	61314	58800	58569	60579	60548	1844.77	3.05
11	111.73	26706	23922	25731	25388	25494	26175	25569	942.04	3.68
12	114.03	7960	9215	8324	8686	8265	8536	8497	430.09	5.06

13 114.99 8459 7676 8638 8677 8518 8716 8447 390.22 4.62

三、貼片之剝離強度

本研究使用 7 種不同之聚合物作為壓克力黏膠剝離強度測定。分別將相同濃度聚合物以不同比例與壓克力黏膠混合，及以不同濃度聚合物，固定比例混合兩種方式，探討其對不同水性配方貼片剝離強度之影響。以手背部位皮膚和玻璃片進行剝離強度測定，紀錄貼片完全撕下時的數值，並比較貼片在二種不同表面黏著的程度。

當聚合物以不同比例與壓克力黏膠混合時，聚合物所佔的比例越高，使貼片黏度下降，則貼片自手背或玻璃剝離，所需的力量也越小，數據如表 14。利用壓克力黏膠與聚合物之比值對剝離力作圖，經線性回歸，所得之相關係數皆可達 0.99 以上，呈現良好線性關係，如圖 27-36 所示。

比較同一聚合物，不同濃度在貼片中剝離的情形，發現聚合物濃度越高時，因壓克力黏膠所佔的比例較少，貼片黏度下降，貼片剝離力也會變小，如表 15 及圖 37-43。其中較為特別的是 Carbopol，不同於其他聚合物，當濃度越高時，貼片之黏性反而增加。其主要原因是因為在 pH=7 時，1% Carbopol 已呈現黏稠之狀態，當濃度增加至 2% 時，黏稠性也增加，因而使貼片所需之剝離力增加。

在貼片中加入 5% 穿山龍萃取物，測得之數據與相同配方、未加穿山龍萃取物的貼片做比較，可以明顯看出加入穿山龍後，貼片黏度下降。下降的程度由 55% 70% 不等，數據如表 16。將不同濃度聚合物對剝離力作圖，經線性回歸，所得之相關係數可達 0.99 以上，呈現良好線性關係，如圖 44-46 所示。

表 14 壓克力黏膠與不同濃度 (%) 及比例之 polymer 混合後，於手和玻璃之剝離力

Polymer	比例 (膠 : polymer)	剝離力-手 (g)	剝離力-玻璃 (g)
Metolose 90SH 15000 0.5%	1:1	691	494.5
	1:2	368	263
	1:3	163	109
Metolose 90SH 15000 1%	1:1	382	273.4
	1:2	232	164
	1:3	116	85
Metolose 90SH 4000 0.5%	1:1	877	536.8
	1:2	497	338
	1:3	267	184
Metolose 90SH 4000 1%	1:1	447	321.8
	1:2	355	257.3
	1:3	221	170.3
Sod. CMC 1%	1:1	738.2	506.2
	1:2	486	408
	1:3	386.9	290.1

表 14 壓克力黏膠與不同濃度 (%) 及比例之 polymer 混合後，於
手和玻璃之剝離力 (續)

Polymer	比例 (膠 : polymer)	剝離力-手 (g)	剝離力-玻璃 (g)
PVP K30 30%	1:1	671.7	582.1
	1:2	546	459.5
	1:3	430	327
PVP K90D 10%	1:1	1032	653.5
	1:2	645.2	452
	1:3	434	326
PVP K90D 20%	1:1	366	254.7
	1:2	178	126
	1:3	91.6	57.2
HPMC 4%	1:1	445	367.2
	1:2	348	264
	1:3	186.5	145.9
Carbopol 1%	1:1	670	541.5
	1:2	384	342.3
	1:3	200.3	156.8

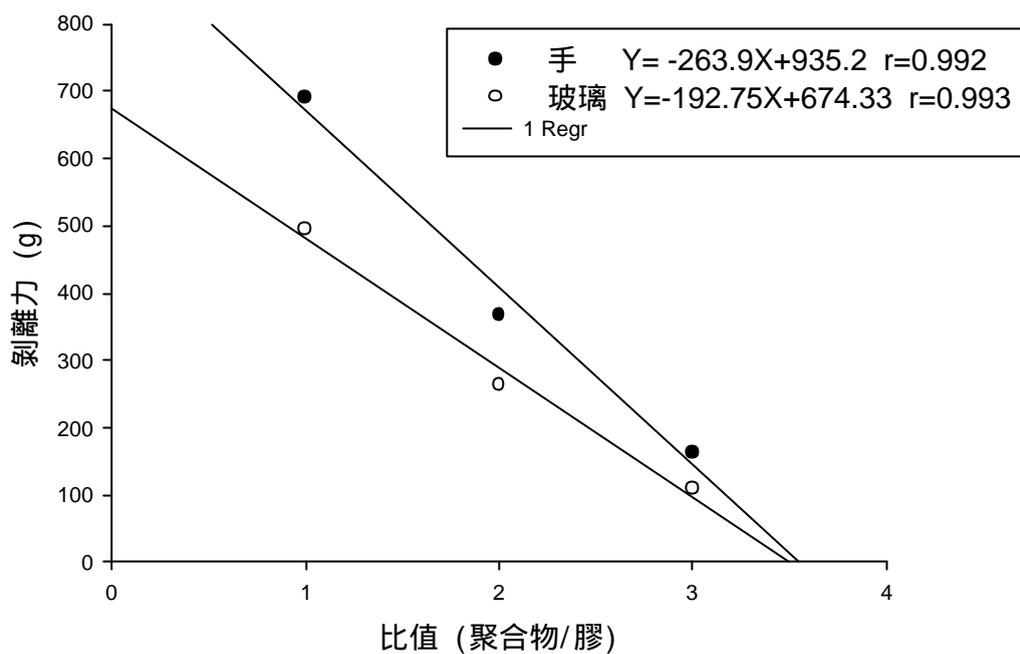


圖 27 0.5% Metolose 90SH 15000 以不同比例與膠混合後於手和玻璃之剝離力

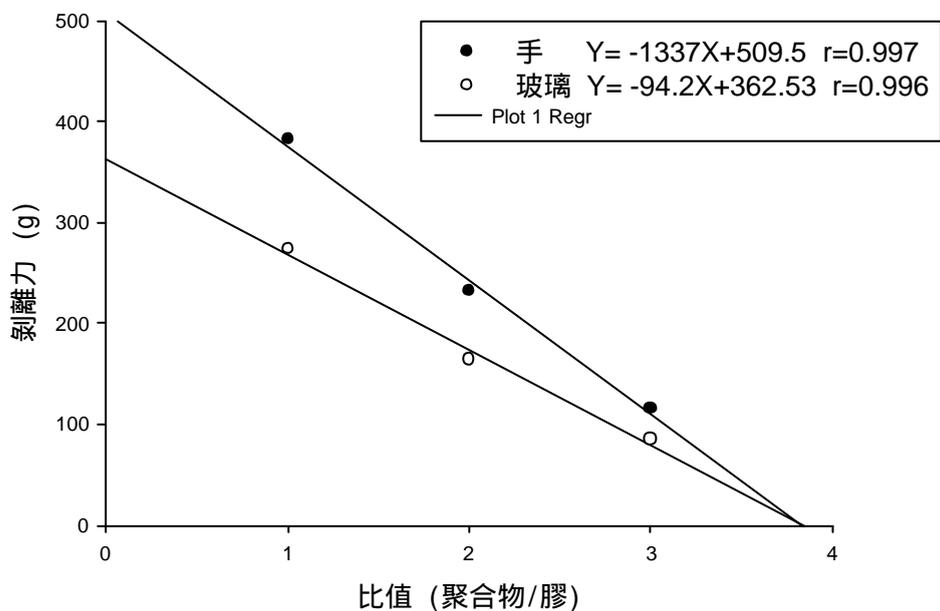


圖 28 1% Metolose 90SH 15000 以不同比例與膠混合後於手和玻璃之剝離力

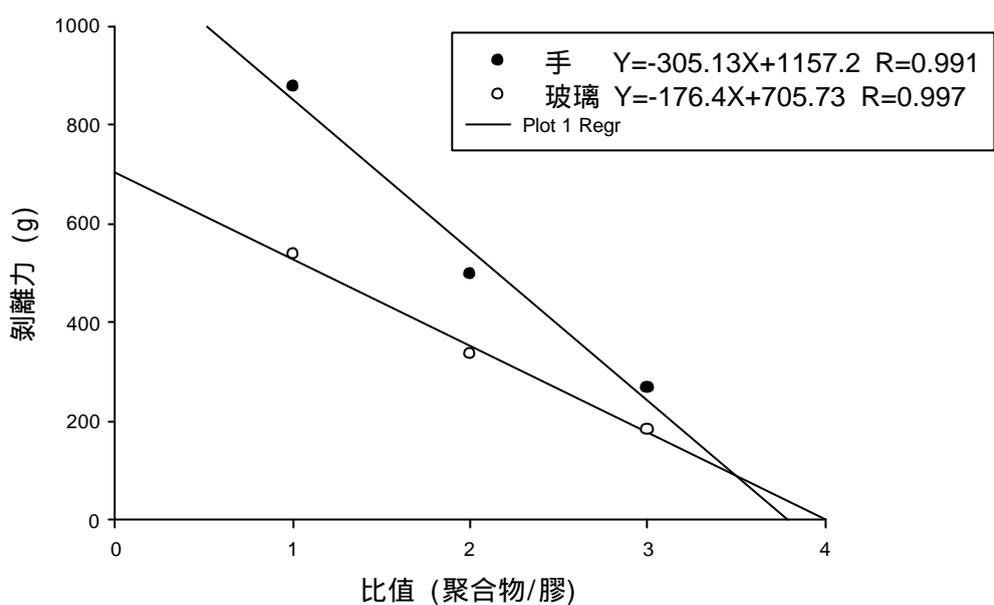


圖 29 0.5% Metolose 90SH 4000 以不同比例與膠混合後於手和玻璃之剝離力

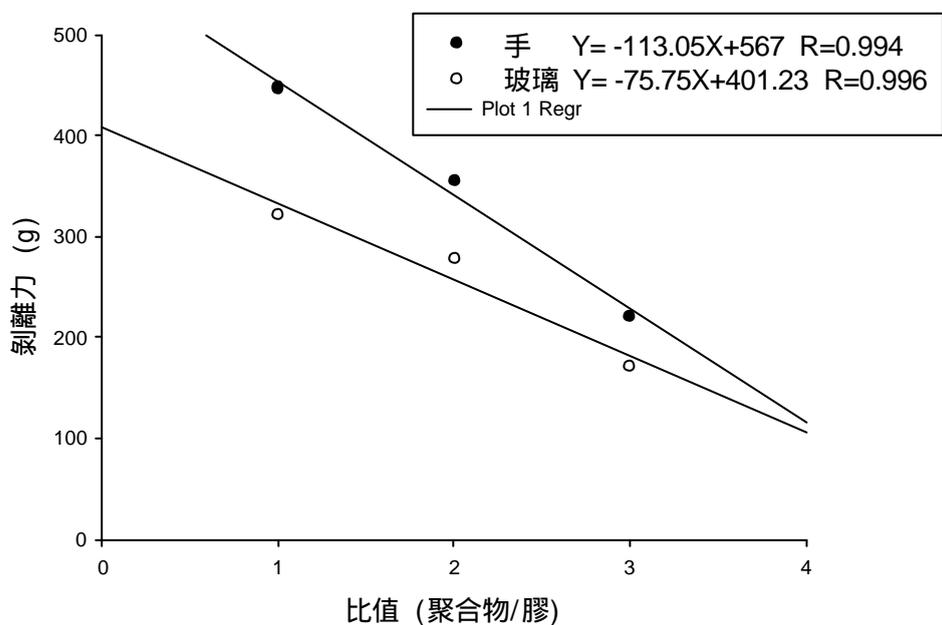


圖 30 1% Metolose 90SH 4000 以不同比例與膠混合後於手和玻璃之剝離力

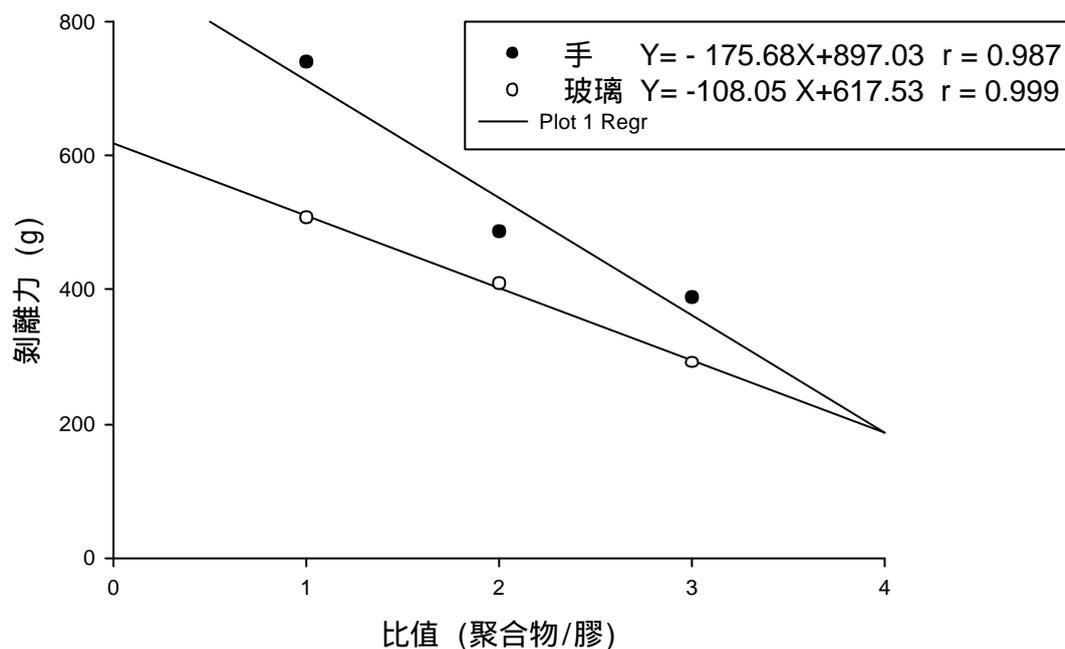


圖 31 1% Sod. CMC 以不同比例與膠混合後於手和玻璃之剝離力

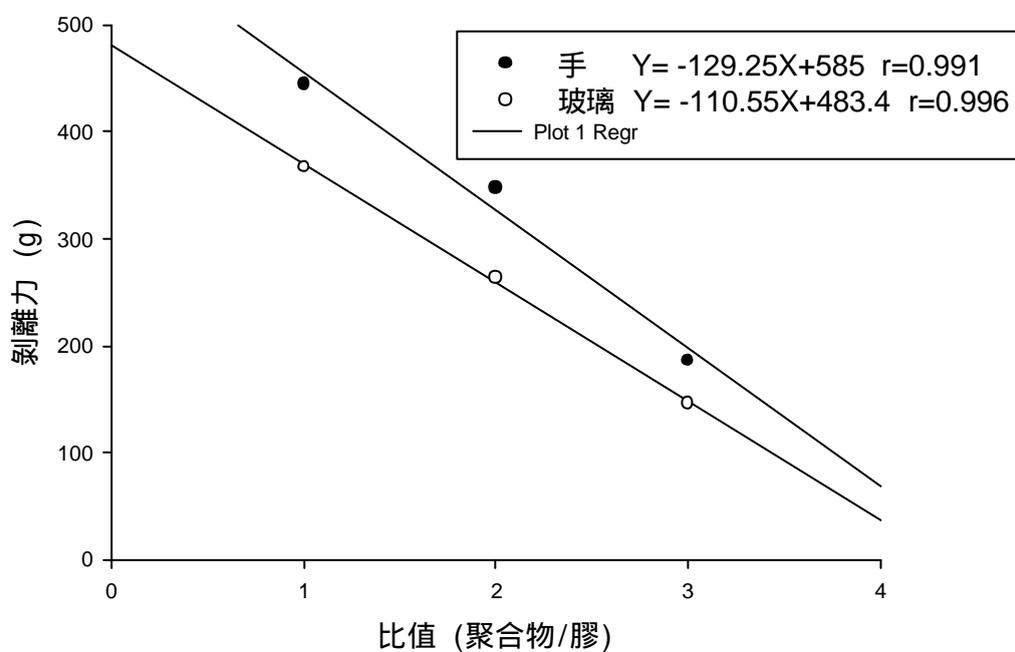


圖 32 30% PVP K30 以不同比例與膠混合後於手和玻璃之剝離力

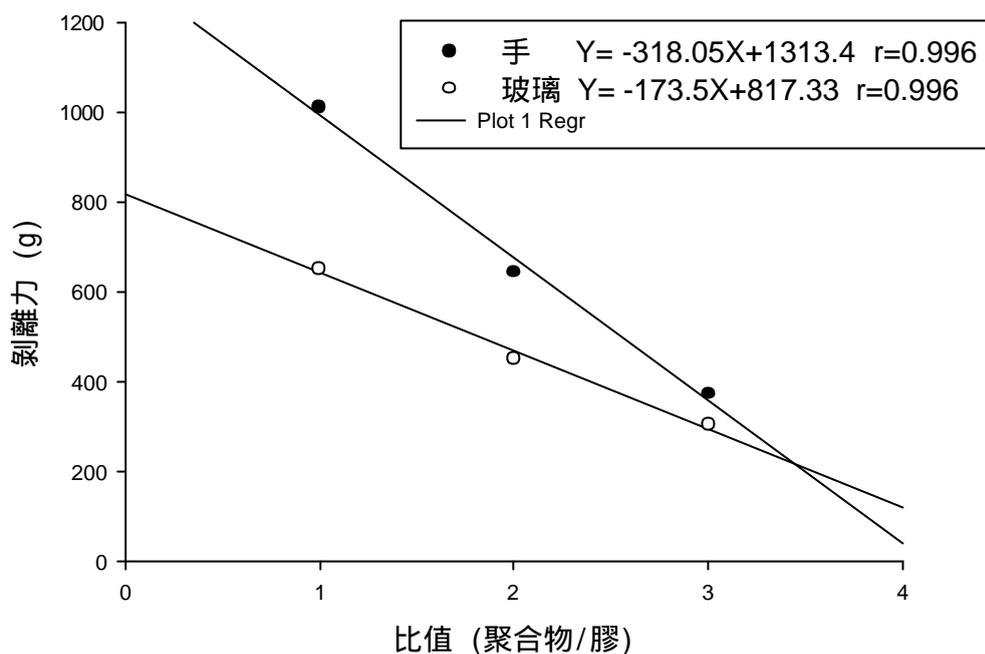


圖 33 10% PVP K90D 以不同比例與膠混合後於手和玻璃之剝離力

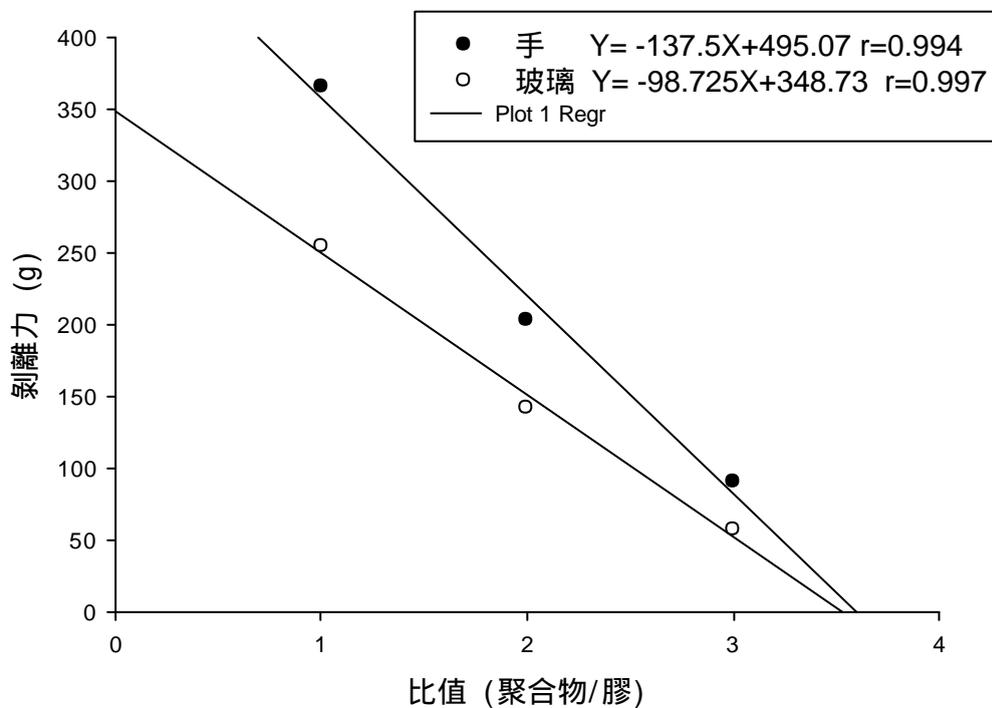


圖 34 20% PVP K90D 以不同比例與膠混合後於手和玻璃之剝離力

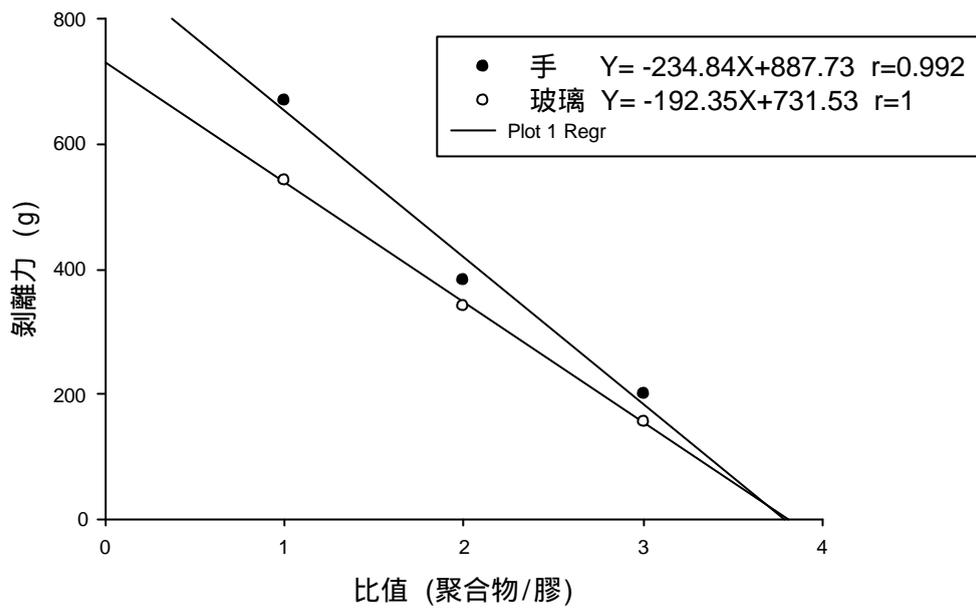


圖 35 4% Pharmacoat 615 以不同比例與膠混合後於手和玻璃之剝離力

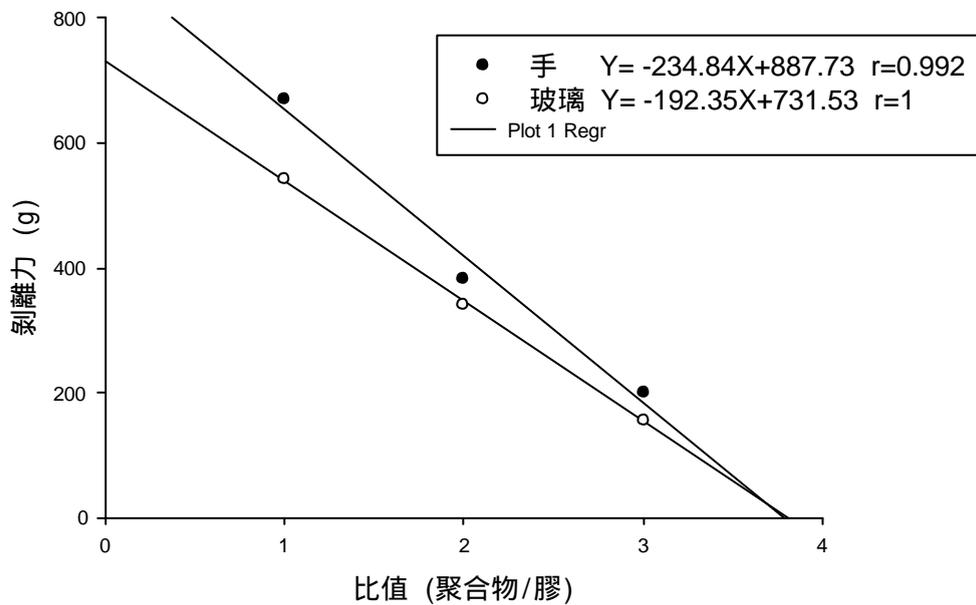


圖 36 1% Pharmacoat 615 以不同比例與壓克力黏膠混合後於手和玻璃之剝離力

表 15 不同濃度 (%) 之 polymer 與膠 1:1 混合後，於手和玻璃之
剝離力

polymer	濃度 (%)	剝離力-手 (g)	剝離力-玻璃 (g)
Metolose 90SH 15000	0.5%	691	494.5
	0.8%	415	337.9
	1%	362	273.4
	1.5%	175	140
	2%	101.5	82
Metolose 90SH 4000	0.5%	877.3	536.8
	1%	496.6	338
	1.5%	246	172
	2%	163	122.6
Sod. CMC	2.5%	673	541
	3%	599.1	450
	3.5%	521.6	391
	4%	447.5	317.5
HPMC	4%	540.4	467.2
	5%	280	236.2
	6%	215	139
	8%	140.6	92.8
	10%	55.8	49.2

表 15 不同濃度 (%) 之 polymer 與膠 1:1 混合後，於手和玻璃之
剝離力 (續)

polymer	濃度 (%)	剝離力-手 (g)	剝離力-玻璃 (g)
PVP K30	25%	896	636.3
	30%	671.7	552
	35%	550.8	433.4
	40%	441.8	288
PVP K90 D	10%	932	653
	12%	549.2	469.9
	15%	427.8	350.1
	20%	400.3	323.4
	25%	373	281.3
Carbopol	0.5%	393.6	292.4
	1%	670	541.5
	1.5%	763.1	659.9
	2%	1134	866.4

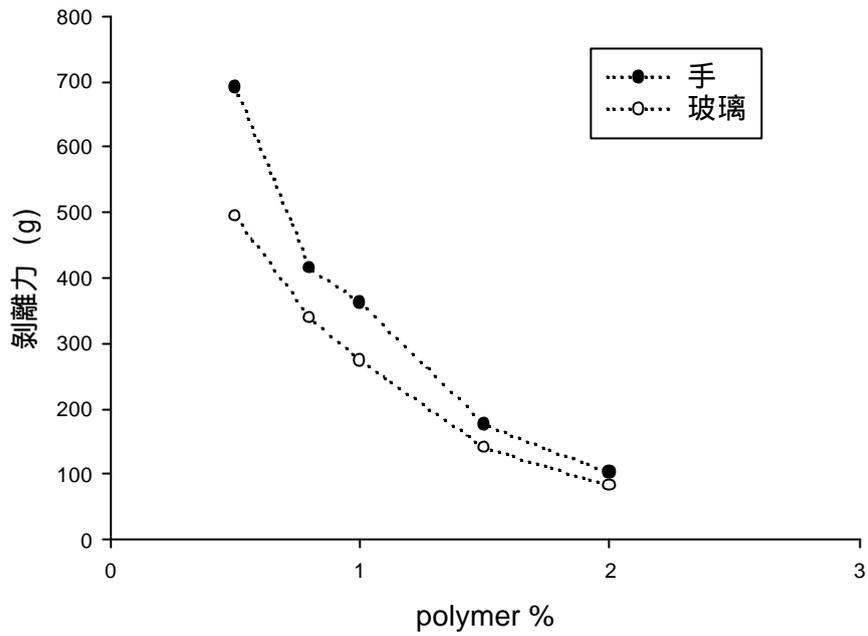


圖 37 Metolose 90SH 15000 以不同濃度與膠 1:1 混合後，於手和玻璃之剝離力

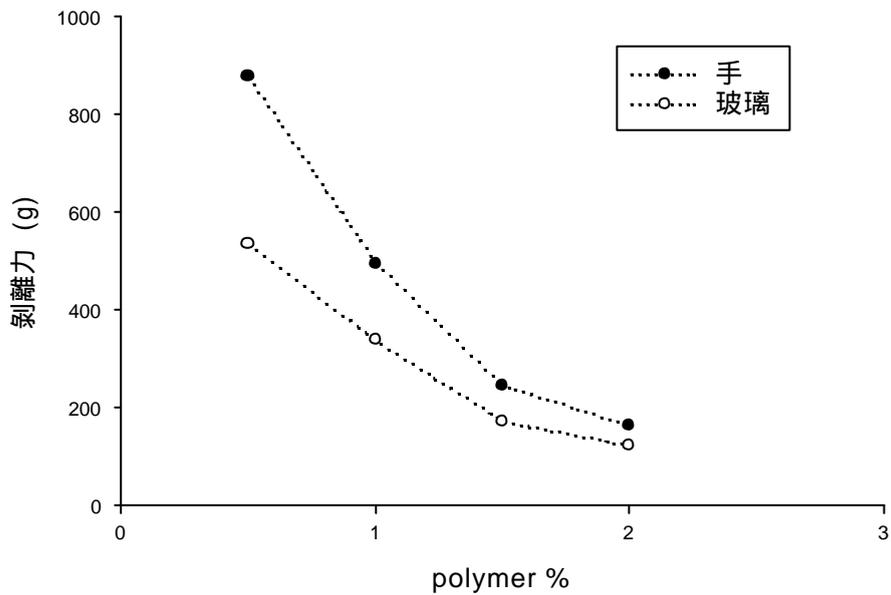


圖 38 Metolose 90SH 4000 以不同濃度與膠 1:1 混合後，於手和玻璃之剝離力

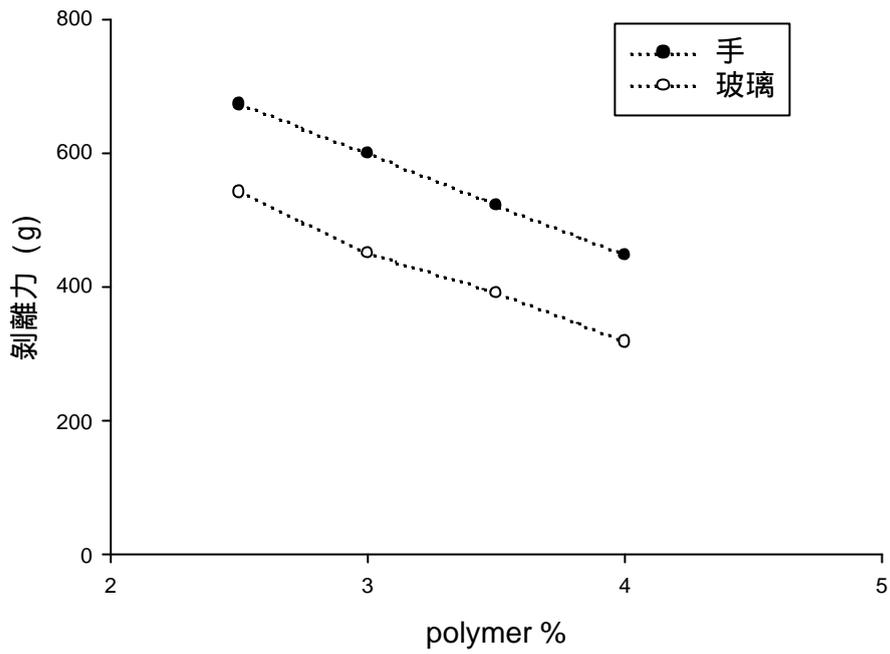


圖 39 Sod. CMC 以不同濃度與膠 1:1 混合後, 於手和玻璃之剝離力

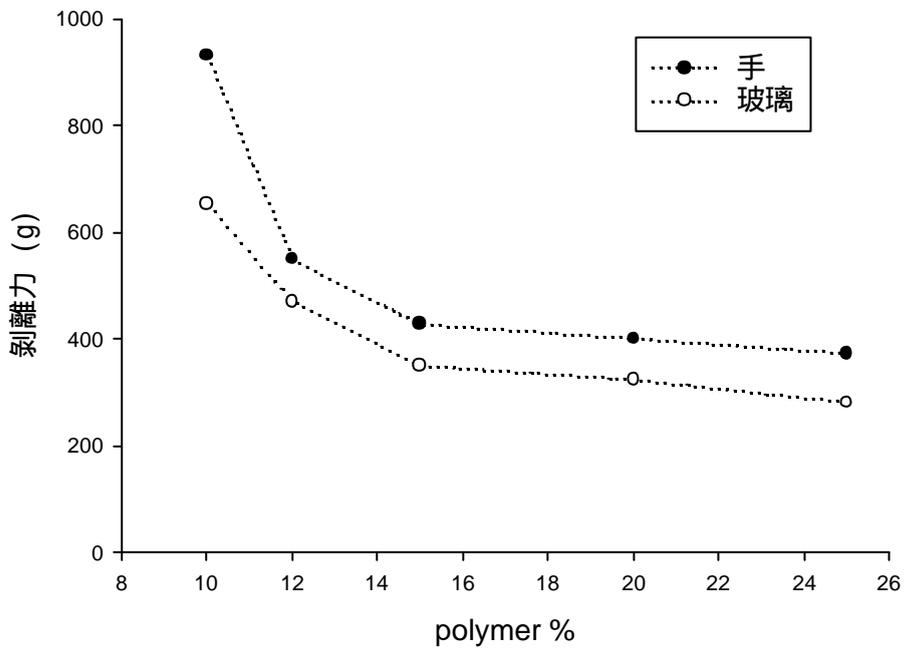


圖 40 PVP K90D 以不同濃度與膠 1:1 混合後於手和玻璃之剝離力

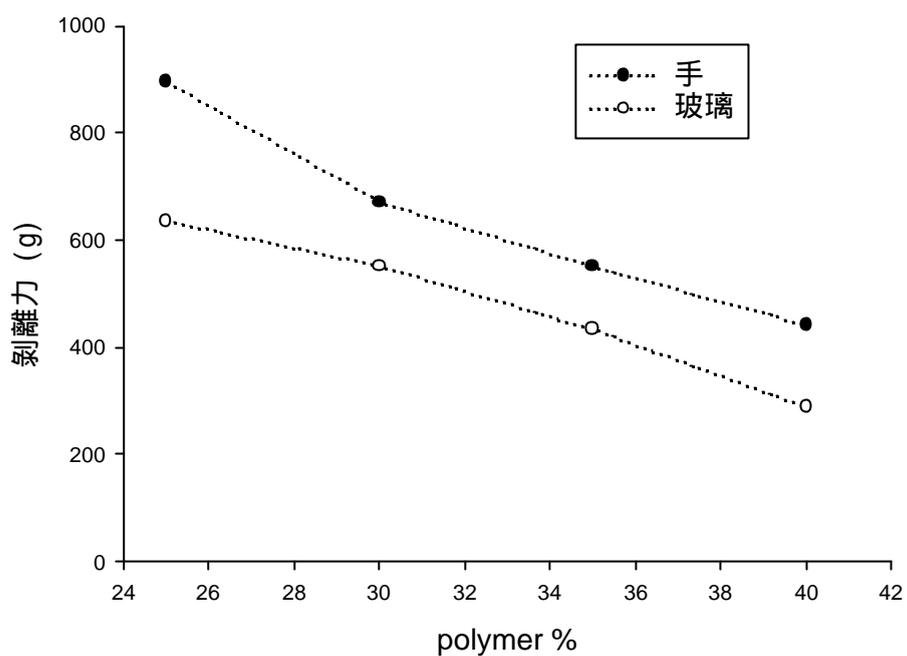


圖 41 PVP K30 以不同濃度與膠 1:1 混合後，於手和玻璃之剝離力

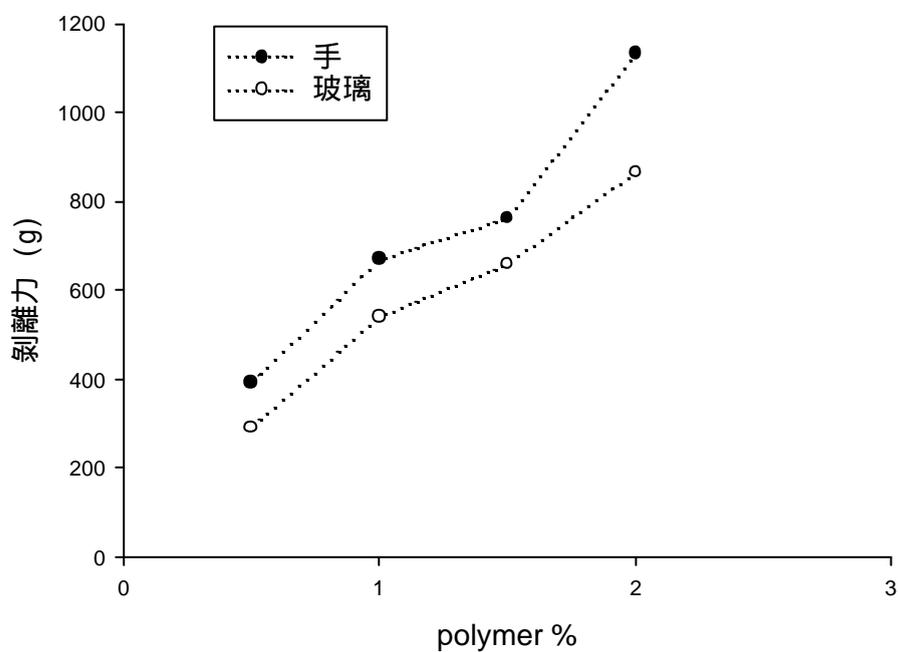


圖 42 Carbopol 以不同濃度與膠 1:1 混合後，於手和玻璃之剝離力

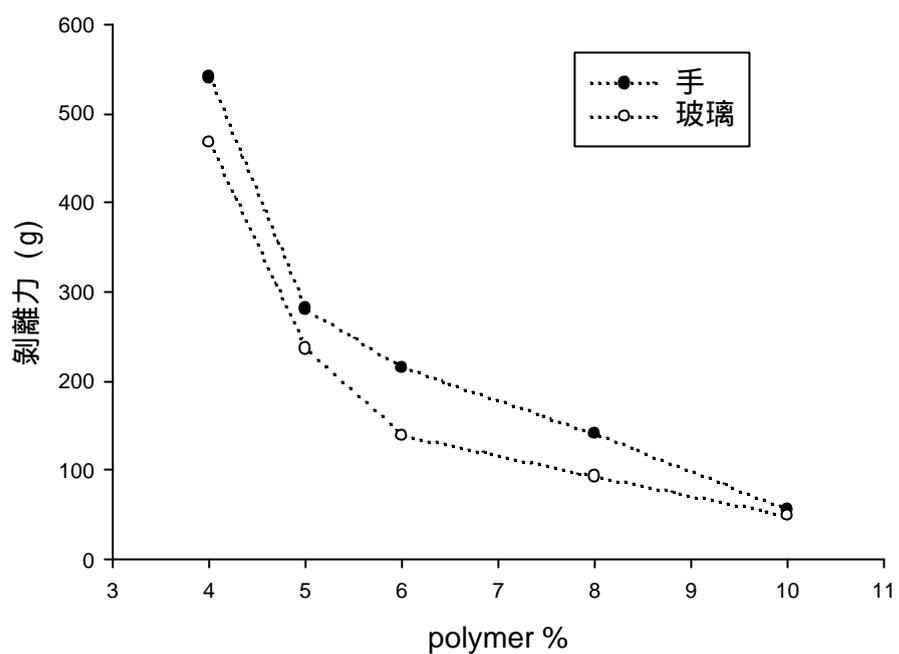


圖 43 Pharmacoat 615 以不同濃度與膠 1:1 混合後，於手和玻璃之剝離力

表 16 含 5%穿山龍乾萃取物之貼片於手和玻璃之剝離力

polymer	濃度 (%)	剝離力-手	剝離力-玻璃
		(g)	(g)
Metolose 90SH 4000	0.5%	331	231.2
	1%	244.9	188.4
	1.5%	145.6	113
	2%	98	74
Sod. CMC	2.5%	269.3	216
	3%	240.4	181
	3.5%	212	155.4
	4%	175	126
Pharmacoat 615	1%	522.8	429.7
	2%	391.6	322.6
	4%	193	154
	6%	67.2	46.7

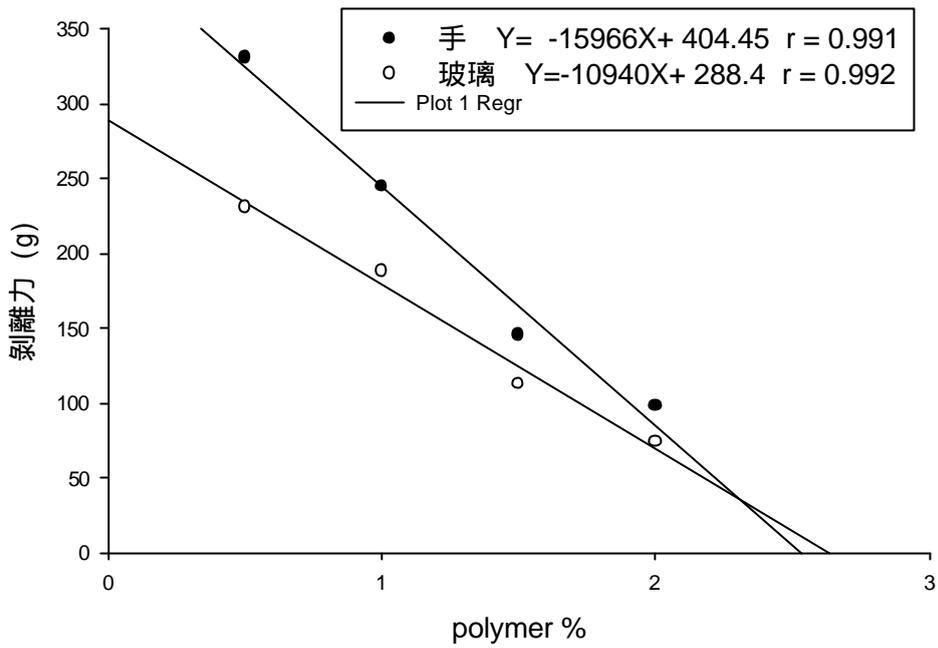


圖 44 Metolose 90SH 4000 以不同濃度與膠 1:1 混合後，於手和玻璃之剝離力

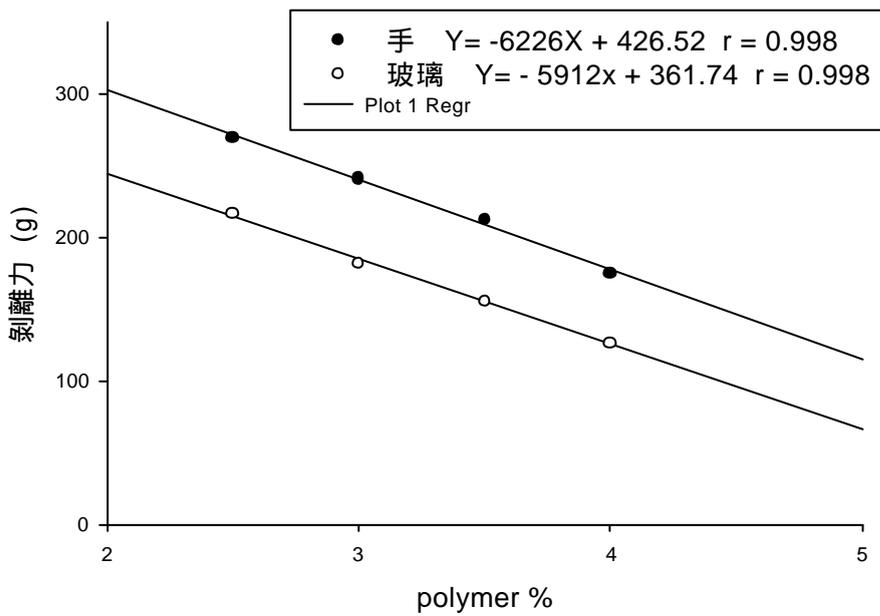


圖 45 Sod. CMC 以不同濃度與膠 1:1 混合後，於手和玻璃之剝離力

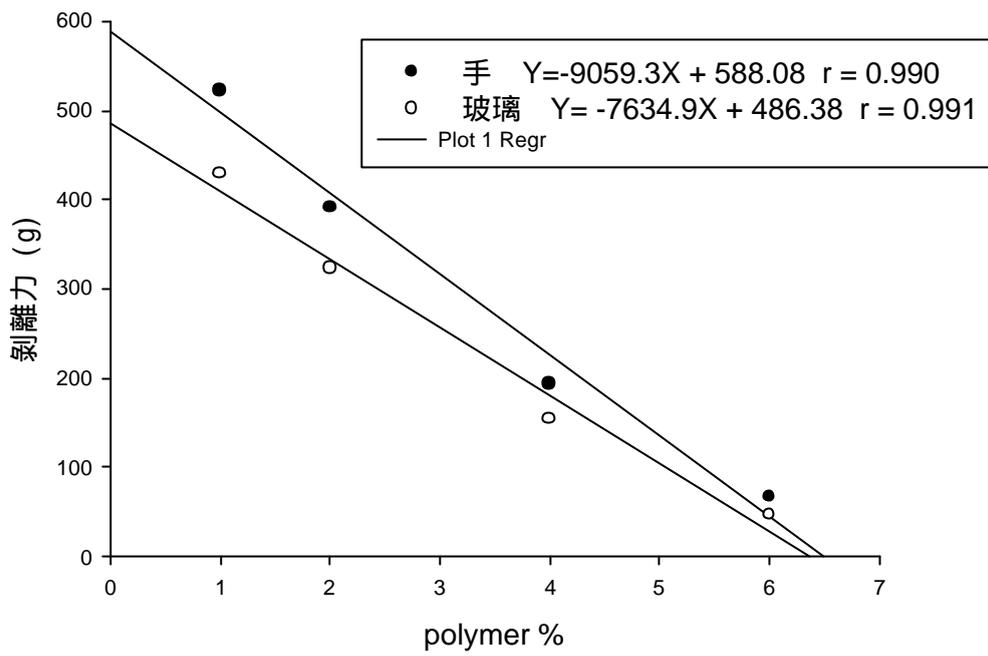


圖 46 Pharmacoat 615 以不同濃度與膠 1:1 混合後,於手和玻璃之剝離力

四、含 Huperzine A 配方之溶離

本實驗所製備之貼片為黏膠基質型，此系統是直接將藥物分散在黏膠劑中，舖於支持層後，加保護膜即得。因此劑型較薄，生產方便，故選用為實驗之劑型。

Huperzine A 的釋放度檢測使用 7 種不同聚合物，依照表 8 之配方，每一聚合物配製 3 種不同濃度，分別以 1:1 之比例與壓克力黏膠混合，比較聚合物不同濃度對於 huperzine A 釋放之影響，並探討聚合物是否能有效的達到控釋作用，期望能中尋找出具有良好之控釋效果之貼片。實驗依美國藥典第 24 版的溶離裝置 5 作為釋放度測試，溶離液為 pH=7 之磷酸緩衝液，溶離試驗使用之配方如表 8，取樣時間間隔由 5 分鐘至 6 小時不等，總取樣時間為 13.75 小時。

配方 1 之溶離曲線如圖 47 所示，配方 1-1 和 1-2 在 45 分鐘時，huperzine A 已釋放超過 50%，釋放 80% 分別需要 2 小時和 4 小時。配方 1-3 釋放較慢，於同時間點只釋放約 37%。此三種不同配方之溶離曲線可以看出其釋放具有相似之趨勢。

配方 2 之溶離曲線如圖 48，配方 2-2 的釋放速率在溶離 4 小時之後趨於平緩，且與配方 2-3 的釋放非常接近，在溶離 8 小時後，要要釋放量為 79 % 和 75 %。

配方 3 之曲線如圖 49，配方 3-1 3-2 在溶離 4 小時後，huperzine A 分別釋出 96% 與 93%，兩者在各時間點釋放之百分比非常接近。Huperzine A 在配方 3-3 的溶出速度較慢，4 小時溶出量約 60%，8 小時後可達 80%。

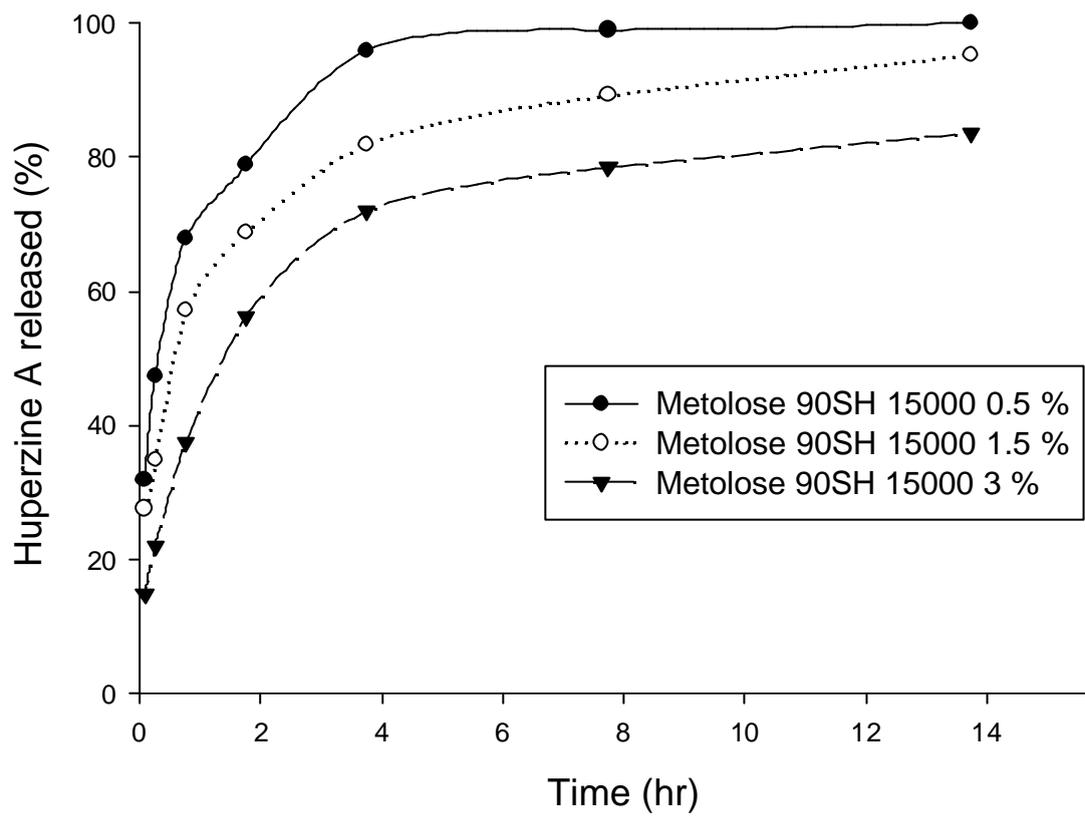


圖 47 配方 1 之溶離曲線圖

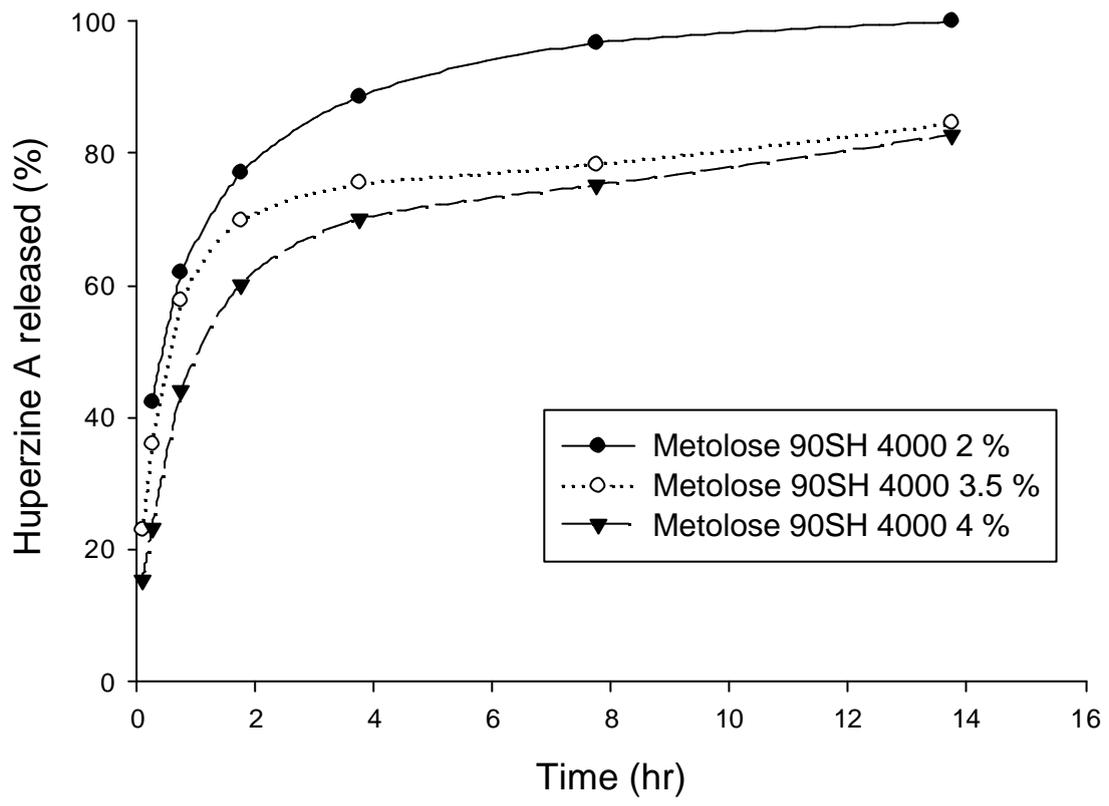


圖 48 配方 2 之溶離曲線圖

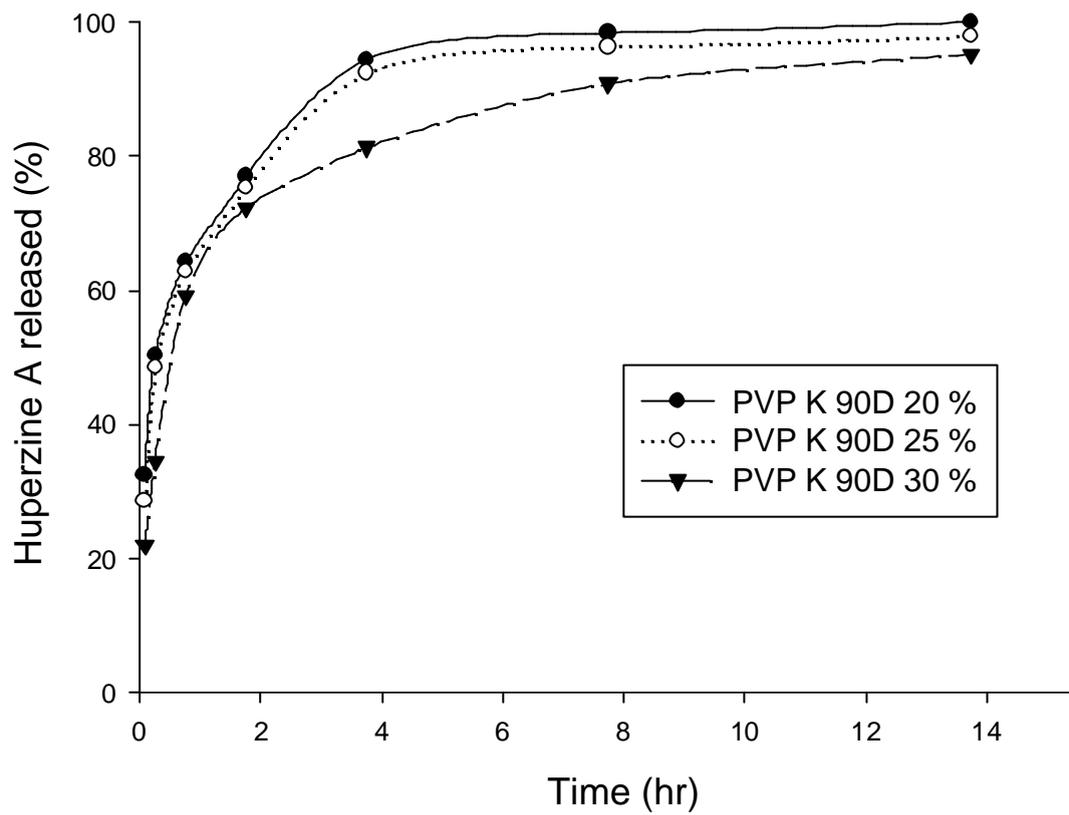


圖 49 配方 3 之溶離曲線圖

配方 4 之溶離曲線圖如圖 50，配方 4-1 在溶離 5 分鐘時，huperzine A 已溶出量接近 70%；配方 4-2 及配方 4-3 在 45 分鐘時，藥物釋放之百分比非常接近，在 45 分鐘之後，配方 4-3 釋放速率下降，在溶離 4 小時後，釋放變的緩慢，13 小時後可溶出大於 85%。

配方 5 之溶離曲線圖如圖 51。Huperzine A 在配方 5-1 和 5-2 之溶離曲線相似，在 15 分鐘時已有 50% 溶出，2 小時後達 75% 以上；於配方 5-3，15 分鐘時只釋放 35%，8 小時後釋放超過 90%。

配方 6 之溶離曲線圖如圖 52。Huperzine A 在配方 6-1，5 分鐘時已釋出 40%，45 分鐘後已超過 80%；於配方 6-2 及 6-3 之溶離曲線較相似，在 8 小時後，藥物釋放量分別為 89% 及 85%。

配方 6 之溶離曲線圖如圖 53。由圖可以看出配方 6-1 及 6-2 時溶離曲線接近，溶離 2 小時後，huperzine A 的釋放量約 80%；Huperzine A 於配方 6-3 中之溶離速率明顯較慢，8 小時後累積量約 82%。

由上述配方之溶離曲線圖可看出，除了 Metolose 90SH 15000、Metolose 90SH 4000、Sod. CMC 和 Carbopol 在不同濃度時仍有相似的緩釋效果外，其他三種聚合物皆需要在較高濃度時，才具有控釋的作用；如 Pharmacoat 615、PVP K90D、PVP K30 分別要在 8%、30%、40% 以上時，對 huperzine A 才會有明顯的控釋效果，而不會在溶離試驗一開始時，大量釋放出。

綜合實驗之結果可以發現，當聚合物濃度越高時，huperzine A 的釋放速率較為緩慢。Huperzine A 的釋放機制是藉由通過吸水膨脹的聚合物而溶出，故當聚合物濃度較低時，聚合物遇水即會快速膨脹

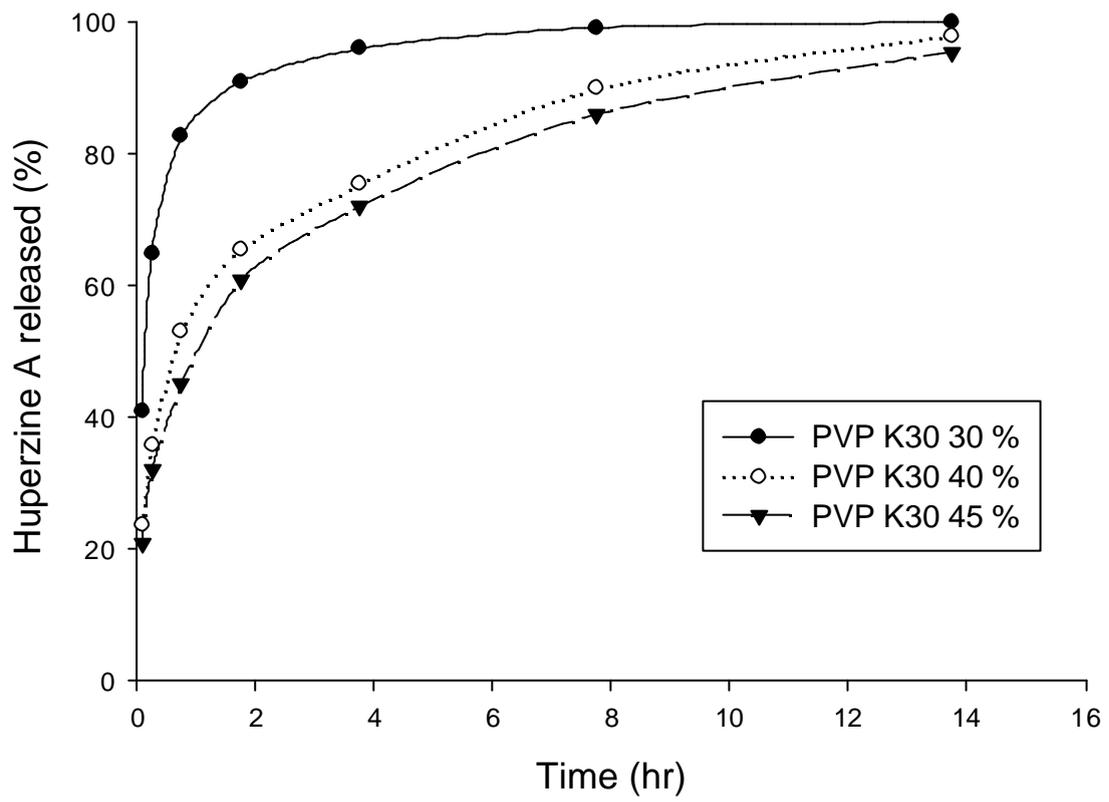


圖 50 配方 4 之溶離曲線圖

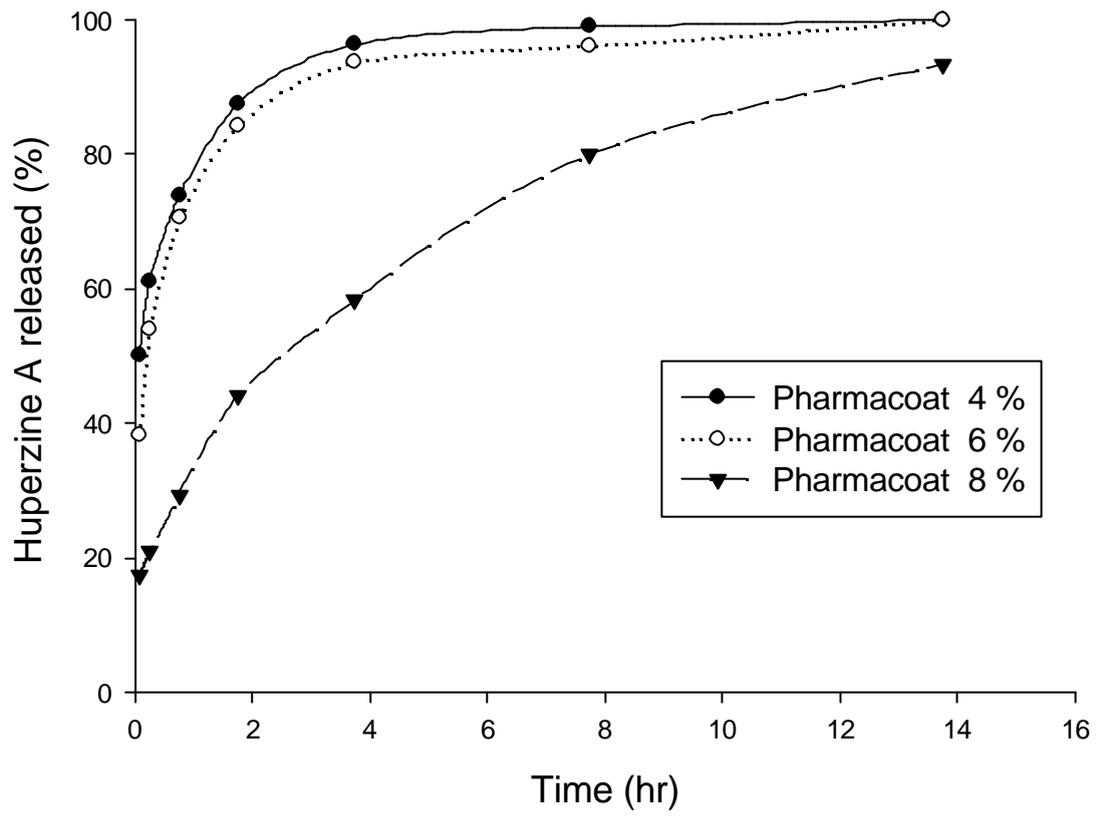


圖 51 配方 5 之溶離曲線圖

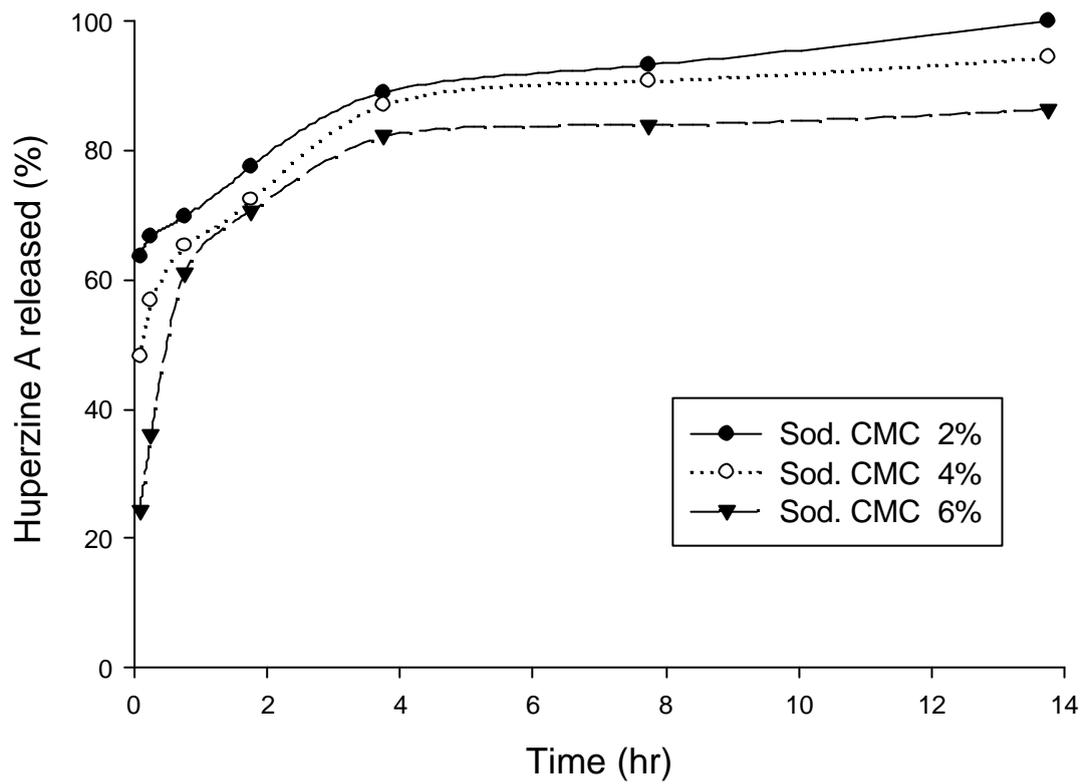


圖 52 配方 6 之溶離曲線圖

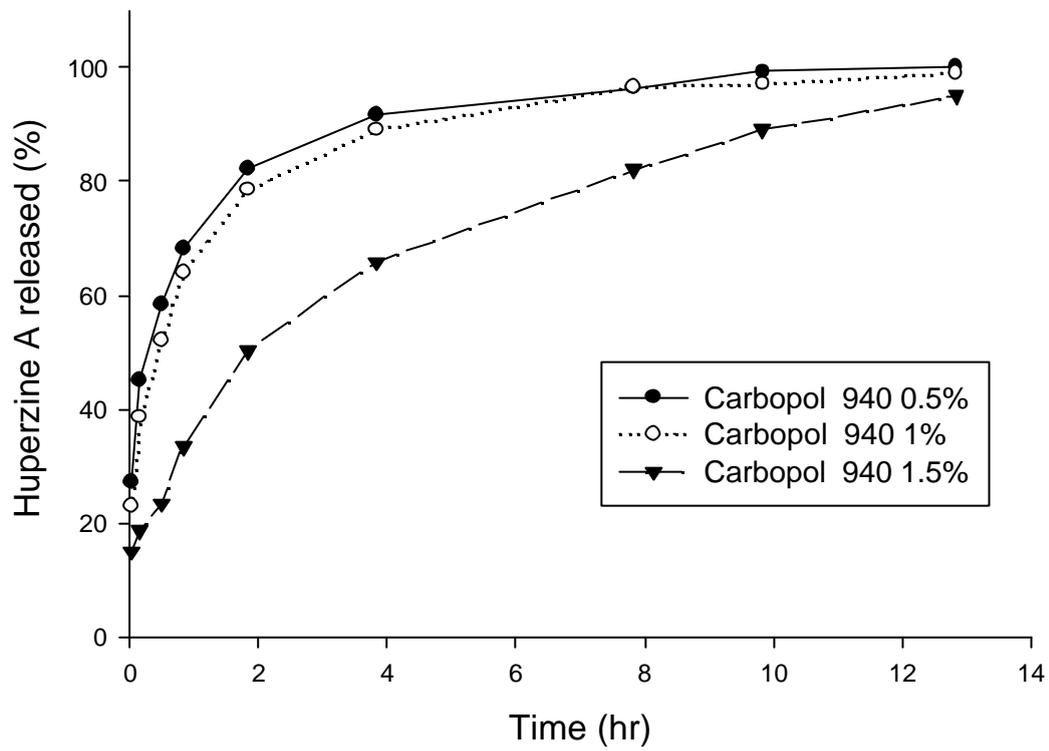


圖 53 配方 7 之溶離曲線圖

水化，藥物得以迅速釋出。除了聚合物之含量會影響釋放之速率外，其分子量及黏度也是影響釋放的主要因素。如 Pharmaccoat 615、Metolose 90SH 4000、Metolose 90SH 15000 皆為 Hydroxypropyl Methylcellulose，以甲氧基 (methoxy) 羥丙基 (hydroxypropyl) 含量和黏度不同來分類，如表 17。根據實驗結果，以配方 1-3、2-3 和 5-3 為例，在溶離 8 小時後，huperzine A 釋出累積量分別為 78 %、75%、84%，顯示 Metolose 90SH 4000 和 Metolose 90SH 15000 對於藥物的控釋效果比 Pharmaccoat 615 好，而 Metolose 90SH 15000 又比 Metolose 90SH 4000 更佳。另有文獻報導⁽¹¹¹⁾，相同黏度之 HPMC 中，羥丙基含量是主要控制藥物溶出的因素，其溶出速率與羥丙基含量成反比。

表 17 HPMC 之取代基及黏度

聚合物	甲氧基 (%)		羥丙基 (%)		黏度 (cps)	USP 分類
Pharmaccoat 615	28	30	7	12	4000	HPMC2910
Metolose 90SH 4000	19	24	4	12	4000	HPMC2208
Metolose 90SH 15000	19	24	4	12	15000	HPMC2208

PVP K90D 與 PVP K30 因分子量不同，對於 huperzine A 之釋放速率有不同之結果。PVP 系列聚合物之 K 值代表其在水溶液中之黏

稠度，分子量越大，黏稠度（K 值）越大。由溶離實驗的結果顯示，貼片配方 3-3 和配方 4-3，溶離 8 小時後，配方 3-3 huperzine A 釋放 86 %，而配方 4-3 接近完全釋放。溶離試驗結果與其本身具有的物化性質吻合。

將 7 種聚合物最高濃度配方溶離所得之數據做比較，以釋放 80%所需的時間為基準，其中配方 1-3 及配方 2-3 在溶離 8 小時後，huperzine A 釋出百分比約為 75%及 78%，兩者在溶離 14 小時後，huperzine A 皆只溶出約 80%左右，顯示這兩種配方可以有更長的釋放時間。另外，配方 6-3 在溶離 4 小時之後，huperzine A 的釋出緩慢，14 小時之後，huperzine A 約 86%溶出；故上述 3 種配方皆可達到藥物持續釋放 12 小時的作用。

故若要製備更長效之 huperzine A 配方，則可以上述 3 種配方再加以改良，如再提高聚合物濃度、或提高黏膠含量，或以不同之聚合物混合，以期獲得理想之配方。

肆、結論

- 1、本研究檢測 huperzine A 之光譜性質，結果與文獻相同，原料純度經 HPLC 測定大於 99 %。
- 2、建立 huperzine A 高效液相層析之安定性分析方法，以量測安定性試驗樣品中 huperzine A 的剩餘量。移動相為 acetonitrile : 0.05 M 磷酸(含三乙胺 0.02 %) = 10 : 90，此一分析方法已經驗證，具有良好準確性、精確性及再現性。酸性溶液中 huperzine A 之分解速率快。
- 3、建立中草藥—穿山龍之層析指紋圖譜分析方法，可供中藥材之品質管。穿山龍為具有潛力，可做為含中藥之穿皮貼片劑的活性材料。
- 4、含亞克力膠之貼片中，水性聚合物其使用濃度越高，貼片之黏度下降。相同聚合物濃度下，加入中藥萃取物也使貼片黏度下降。
- 5、本研究所使用之亞克力膠製得之水性貼片輕薄，適宜之貼片配方為亞克力膠與聚合物 1:1 混合，其中聚合物部分以 Metolose 90SH 15000 0.5 % 1 %、Metolose 90SH 4000 0.5 % 1.5 %、Sod. CMC 3 % 4%、Pharmacoat 615 4% 6%、PVP K30 35% 40%、PVP K90D 12% 25%和 Carbopol 0.5% 1.5%，具有最適宜之皮膚剝離力(200 g 600 g)之間，撕下時不造成皮膚疼痛感。
- 6、3 種配方 Metolose 90SH 15000 3 %、Metolose 90SH 4000 4 % 及 Sod. CMC 6%可達到藥物持續釋放 12 小時的作用。