

編號：CCMP97-RD-007

中藥飲片與不同顆粒大小之萃取率及成分之比較

賴宏亮
國立屏東科技大學

摘 要

本計畫選擇常用的藥材黃耆及含有黃耆之方劑黃耆建中湯為研究對象，並設計飲片及將飲片以粉碎機粉碎後，依標準篩網進行過篩，分別取顆粒在4mesh（孔徑4.75mm）以上、10mesh（孔徑1.7mm）、20 mesh（孔徑0.85mm）及20 mesh（孔徑0.85mm）以下等不同粒度之顆粒，共五種處理，探討萃取率並開發高效液相層析法(HPLC)進行成分之比較。本研究結果在大量藥材的情況下，顆粒粉碎越小將不利於萃取率及paeoniflorin, calycosin, cinnamic acid, cinnamaldehyde, formononetin, glycyrrhizin, gingerol等成分之釋放，而以4~10mesh顆粒大小將較利於萃取及成分釋放，此結果將可提供藥廠對濃縮製劑製造時之藥材顆粒粒度能提供一較完整之參考資料。

關鍵詞：黃耆、黃耆建中湯、高效液相層析法

Comparison of Extracting Ratio and Quality from Medicinal Slices and Different Particle Sizes in Traditional Chinese Medicine

Lay, Horng-Liang

National Pingtung University of Science & Technology

ABSTRACT

This project is focus on Chinese herbal medicines which are Astragali Radix and Huang-Gi-Jian-Zhong-Tang as research targets, and design the sliced medicinal herbs and after crushing the sliced medicinal herbs with the pulverizer, have sifted in accordance with the standard screen mesh. Fetch the particle of different particle sizes that in the above of 4 mesh (aperture 4.75 mm), 10 mesh (aperture 1.7 mm), 20 mesh (aperture 0.85 mm) and less 20 mesh (aperture 0.85 mm) are following, etc., amounts to five kinds of treatment, is compared to probe into the extracting rate and develop the high-performance liquid chromatography (HPLC). The results of yields of extraction and quantitative analysis indicated that with the decrease of partical size, the yields of extraction and concentration of marker substances such as paeoniflorin, calycosin, cinnamic acid, cinnamaldehyde, formononetin, glycyrrhizin, gingerol decreased; while partical size in 4~10 mesh had a higher value in the yields of extraction and concentration of marker substances and go on, one can offer one more intact reference material to the thick particle size of crude drags particle that draws back the preparation while making.

Keywords: Astragali Radix, Huang-Gi-Jian-Zhong-Tang, high-performance liquid chromatography

壹、前言

近年來中草藥的風潮席捲全球，根據世界衛生組織統計，全世界約有40億人使用中草藥，且估計中草藥的開發在10年內將在世界上全面興起。去年全球中草藥市場規模已突破200億美元，各區域佔有率中，排名最高為歐洲佔41%、北美洲佔22%次之、第三為日本及其他國家佔14%、中國大陸則為3%，並且每年以10%幅度快速成長，國內的相關市場約150~250億元新台幣¹⁾。造成全球重視中草藥開發的主要因為各國法令明確，明定管理機制，讓有意參與投資的廠商依法可循，加速產業發展。中草藥為我國傳統醫學之用藥，經歷數千年而不衰，是非常重要的文化資源，值得加以發揚光大，台灣應趁全世界的中草藥市場正大幅成長中，且西方世界剛剛起步之時，將中草藥科學化，是切入全球醫藥市場之大好良機。

行政院召開第三次生物技術策略(SRB)會議提出三個議題，其中包括「中草藥研究開發規劃」，此規劃係基於中草藥開發為國內推動生物技術產業之獨特利基，因此延續第二次會議議題「中藥發展策略」，更提出具體發展計畫。在第四次生物技術策略(SRB)會議中亦有相關之議題「中草藥研發及市場之國際化」。由以上顯現政府對中草藥長期發展之重視程度且不遺餘力。此外，中醫藥委員會在「研發中草藥的步驟與展望」中，亦希望將臺灣發展成中草藥科技島，繼電子業後，期待中草藥帶動臺灣產業開創國際市場的另一片天空。

中藥製劑是治療時之用藥，必須能充分發揮藥效並具安全性，故其成分及含量都必須正確。中草藥製劑技術包括製程技術之開發及新劑型之開發。在製程技術之開發方面包括處方依據、原料之生產取得、有效煎煮與萃取技術、濃縮技術、乾燥技術、配方技術、造粒技術、劑型設計、指標成分或有效成分有無因製程而有所改變、劑量多寡、檢驗規格的訂定等均須規格化與制定標準操作程序。新劑型之開發方面在保證臨床療效的前題下，運用現代新製程技術及利用新材質以改善中藥傳統劑型的缺點，降低一次所需服用量並使投藥方便，配合劑型的設計改變給藥途徑，提高療效，並使成品品質均一和安定性得到良好控制，延長保存時效，增加產品之附加價值，同時提高產能和降低成本之科學化中草藥新產品。藉以提升中草藥科技水準，使產品能多元化，增加競爭力，進而開拓國際市場。

中藥原料的品質直接影響到中藥濃縮製劑產品之品質，特別是飲片的問題，在傳統中藥湯劑是以中藥材飲片加以煎煮，然而在製劑廠製造

濃縮製劑時，常將藥材粉碎成碎片或小顆粒的狀態加以煎煮萃取，這兩者之間對於藥材的浸膏萃取率及成分的萃出之差異性是重要課題。因此本計畫選擇常用的藥材黃耆為研究對象，並設計飲片及將飲片以粉碎機粉碎後，依標準篩網進行過篩，分別取顆粒在4 mesh（孔徑4.75mm）以上、10 mesh（孔徑1.7mm）、20 mesh（孔徑0.85mm）及20 mesh（孔徑0.85mm）以下等不同粒度之顆粒，共五種處理，探討萃取率並開發高效液相層析法(HPLC)進行成分之比較。再進而選擇含有黃耆之方劑黃耆建中湯，依上述相同的處理進行萃取率及成分之比較，期對濃縮製劑製造時之藥材顆粒粒度能提供一較完整之參考資料。

貳、材料與方法

一、材料

(一) 藥材之收集

黃耆及黃耆建中湯（黃耆、桂枝、白芍、甘草、生薑、大棗）等藥材在藥材市場購買。

(二) 指標成分及內部標準物質

1. 黃耆：calycosin、formononetin、astragaloside IV²⁻³⁾
2. 桂枝：cinnamaldehyde、cinnamic acid⁴⁻⁵⁾
3. 白芍：paeoniflorin⁶⁻⁷⁾
4. 甘草：glycyrrhizin⁸⁻¹¹⁾
5. 生薑：gingerol¹²⁻¹³⁾
6. 大棗：ursolic acid¹⁴⁻¹⁵⁾
7. 內部標準物質：honokiol

上述各藥材之指標成分，將從日本米山、Nacalai，法國Extrasynthese、Sigma及Fluka等標準品供應公司採購收集，並利用HPLC分析可能存在之成分。

(三) 試藥及溶媒

95% Ethanol（公賣局）、超純水(18 MΩ，Millipore)、Acetonitrile（LC級）、Methanol（LC級）、Phosphoric acid（特級）、0.45μm濾膜(Millipore)、95% ethanol等。

二、方法

(一) 藥材飲片與不同顆粒之製作

飲片：黃耆、桂枝、白芍、甘草、生薑、大棗等藥材飲片

不同顆粒：將市售黃耆及黃耆建中湯之各藥材飲片以粉碎機粉碎後，依標準篩網進行過篩，分別取顆粒在4 mesh（孔徑4.75 mm）以上、10mesh（孔徑1.7mm）、20 mesh（孔徑0.85mm）及20 mesh（孔徑0.85mm）以下等不同粒度之顆粒。

上述之試驗設計共五種處理，探討萃取率及成分之比較。

(二) 浸膏萃取率之比較

以稀醇萃取及水萃取探討黃耆及黃耆建中湯之飲片與不同顆粒大小之萃取率比較。

1. 黃耆

(1) 稀醇萃取

將蒸發皿以105°C乾燥1小時，乾燥器內放冷，稱量。取飲片與不同顆粒大小檢品5.0g、50.0g及500.0g，精確稱定，置有玻璃塞之三角錐瓶中，加稀乙醇70mL、700mL及7000mL，每隔30分鐘加以振搖一次，浸漬8小時，靜置16小時後，以No2.濾紙自然式過濾。三角錐瓶用稀乙醇洗滌，並將洗液通過濾器洗滌殘渣而與濾液合併，直至全量達100mL、1000mL及10000mL為止。分取濾液50mL、500mL及5000mL，置已知重量之蒸發皿中，於水浴器上蒸乾，並於105°C乾燥4小時，計算各檢品所含稀乙醇抽提物百分率，再依檢品含水百分率換算成乾品之稀乙醇抽提物百分率。

(2) 水萃取

先將蒸發皿以105°C乾燥1小時，乾燥器內放冷，稱量。取飲片與不同顆粒大小檢品5.0g、50.0g及500.0g，精確稱定，置有玻璃塞之三角錐瓶中，加水70mL、700mL及7000mL，每隔30分鐘加以振搖一次，浸漬8小時，靜置16小時後，以No2.濾紙自然式過濾。三角錐瓶用水洗滌，並將洗液通過濾器洗滌殘渣而與濾液合併，直至全量達100mL、1000mL及10000mL為止。分取濾液50mL、500mL及5000mL，置已知重量之蒸發皿中，於減壓濃縮機濃縮乾，並於105°C乾燥4小時，計算各檢品所含水抽提物之百分率，再依檢品含水百分率換算成乾品之水抽提物百分率。

2. 黃耆建中湯

(1) 稀醇萃取

先將蒸發皿以105°C乾燥1小時，於乾燥器內放冷，稱量。取黃耆1.5g、桂枝3.0g、白芍6.0g、甘草2.0g、生薑3.0g、大棗3.0g各藥材飲片與不同顆粒大小之檢品18.5g（1日量）、185g（10日量）及1850g（100日量），精確稱定，置有玻璃塞之三角錐瓶中，加稀乙醇約300mL、3000mL及30000mL，每隔30分鐘加以振搖一次，浸漬8小時，靜置16小時後，以相當No2.之孔隙濾紙自然式過濾。三角錐瓶用稀乙醇洗滌，並將洗液通過濾器洗滌殘渣而與濾液合併，直至全量達370mL、3700mL及37000mL為止。分取濾液185mL、1850mL及18500mL，置已知重量之蒸發皿中，於水浴器上蒸乾，並於105°C乾燥4小時，然後計算各檢品所含稀乙醇抽提

物之百分率，再依檢品含水百分率換算成乾品之稀乙醇抽提物百分率。

(2) 水萃取

先將蒸發皿以105℃乾燥1小時，於乾燥器內放冷，稱量。取黃耆1.5g、桂枝3.0g、白芍6.0g、甘草2.0g、生薑3.0g、大棗3.0g各藥材飲片與不同顆粒大小檢品18.5g（1日量）、185.0g（10日量）及1850.0g（100日量），精確稱定，置有玻璃塞之三角錐瓶中，加水300 mL、3000 mL及30000 mL，每隔30分鐘加以振搖一次，浸漬8小時，靜置16小時後，以相當No.2之孔隙濾紙自然式過濾。三角錐瓶用水洗滌，並將洗液通過濾器洗滌殘渣而與濾液合併，直至全量達370mL、3700mL及37000mL為止。分取濾液185mL、1850mL及18500mL，置已知重量之蒸發皿中，於減壓濃縮機濃縮乾，並於105℃乾燥4小時，然後計算各檢品所含水抽提物之百分率，再依檢品含水百分率換算成乾品之水抽提物百分率。

(三) HPLC分析方法之建立

1. 藥材及方劑檢品溶液之製備（各依照標準湯劑的作法）

(1) 稀醇萃取

a. 黃耆：

稱取黃耆飲片與不同顆粒大小之材料各5.0g、50.0g及500.0g，加20倍量的50% ethanol 100mL、1000mL及10000mL進行迴流萃取，萃取時間為3小時。萃取後利用布氏漏斗以No.2濾紙過濾，再經濃縮後定容於50mL、500mL及5000mL之定量瓶，添加適量內部標準品溶液，以0.45μm濾膜過濾後，供作HPLC定量之檢品溶液。

b. 黃耆中湯：

稱取黃耆建中湯飲片與不同顆粒大小材料黃耆1.5g、桂枝3.0g、白芍6.0g、甘草2.0g、生薑3.0g、大棗3.0g，各藥材飲片與不同顆粒大小檢品18.5g（1日量）、185.0g（10日量）及1850.0g（100日量），加20倍量的50% ethanol共370mL、3700mL及37000mL進行迴流萃取，萃取時間為3小時。萃取後利用布氏漏斗以No.2濾紙過濾，再經濃縮後定容於50mL及500mL之定量瓶，添加適量內部標準品溶液，以0.45μm濾膜過濾後，供作HPLC定量之檢品溶液。

(2)水萃取

a.黃耆：

稱取黃耆飲片與不同顆粒大小之材料各5.0g、50.0g及500.0g，置於煎煮瓶內加入20倍量的水進行煎煮，待煎煮至10倍量的水時，趁熱以三層紗布過濾，放冷後依所需之分析濃度取適量標準湯劑並稀釋成70% methanol溶液，同時添加適量內部標準品溶液，以0.45 μ m濾膜過濾後，供作HPLC定量之檢品溶液。

b.黃耆建中湯：

稱取黃耆建中湯飲片與不同顆粒大小之材料黃耆1.5g、桂枝3.0g、白芍6.0g、甘草2.0g、生薑3.0g、大棗3.0g，各藥材飲片與不同顆粒大小檢品18.5g（1日量）、185.0g（10日量）及1850.0g（100日量），置於煎煮瓶內加入二十倍量的水進行煎煮，待煎煮至十倍量的水時，趁熱以三層紗布過濾，放冷後依所需之分析濃度取適量標準湯劑並稀釋成70% methanol溶液，同時添加適量內部標準品溶液，以0.45 μ m濾膜過濾後，供作HPLC定量之檢品溶液。

(四)分析方法之建立⁽¹⁶⁻¹⁷⁾

1. 高效液相層析儀系統配備

(1) 高效液相層析儀：Hitachi系統

(2) Autosampler L-7200

(3) UV/Vis Detector L-7420

(4) Pump L-7100 (5) Interface

D-7000

(6) Data analysis：Computer control

2. 以HPLC來分離樣品，循以下步驟來求得適當的分離條件：

(1) 按所要分析之樣品的特性，來選擇所要的層析模式、偵測器及偵測波長。

(2) 決定最初的操作條件。

(3) 進行第一次的操作條件。

(4) 由實驗所得的層析圖，判斷改進分離結果所需改變的條件。

(5) 以改變後的條件，進行再一次的實驗。

(6) 重複步驟(4)及(5)，直到求得最佳結果。

(7) 決定高效液相層析條件包括固定相之層析管柱種類及長度、移動相溶媒系統、流速、檢測器波長及注入量等。

3. Calibration curve 之建立⁽⁸⁻⁹⁾

精確量取各藥材對照標準品並添加適量之70% methanol稀釋調配成一系列不同濃度標準品溶液，其配製之溶液分述如下：

(1) 黃耆藥材

Calycosin: 1.56、3.13、6.25、12.5、25.0、50.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Formononetin: 1.56、3.13、6.25、12.5、25.0、50.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$

(2) 黃耆建中湯

a. 黃耆：

Calycosin: 0.78、1.56、3.13、6.25、12.5、25.0、50.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Formononetin: 0.78、1.56、3.13、6.25、12.5、25.0、50.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$

b. 桂枝：

Cinnamaldehyde: 1.56、3.13、6.25、12.5、25.0、50.0、100.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Cinnamic acid: 0.94、1.88、3.75、7.5、15.0、30.0、60.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$

c. 白芍：

Paeoniflorin: 7.5、15.0、30.0、60.0、120.0、240.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$

d. 甘草：

Glycyrrhizin: 3.44、6.88、13.75、27.5、55.0、110.0、220.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$

e. 生薑：

Gingerol: 0.78、1.56、3.13、6.25、12.5、25.0、50.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$

上述各藥材之標準品溶液皆添加適量內部標準品，並經0.45 μm 濾膜過濾後，供製作標準曲線之溶液，各取20 μL 注入HPLC進行分析，以標準品與內部標準品各波峰面積比為Y軸及標準品之濃度為X軸，繪圖製作檢量線，並求得標準曲線之線性回歸方程式($y=ax+b$)及相關係數(r)。

4. 分析方法之確效試驗(validation)⁽⁸⁻⁹⁾

(1) 同日內(intra-day)、異日內(inter-day)：

取上述配製完成之檢量線各標準品溶液低、中、高三種濃度，同一濃之標準品溶液分別於24小時內及每24小時間隔以循環方式分析三次，並分別計算同濃度檢品所得之對照標準品面積比值之平均值、標準偏差及變異係數。

5. 回收率(recovery)

- (1) 取檢品溶液1.5mL，分別添加三種不同濃度(分別為低濃度 C_l 、中濃度 C_m 、高濃度 C_h)之指標成分標準品溶液，且每一濃度均重複操作三組，添加適量之標準品，經0.45 μ m過濾膜過濾，以供HPLC分析，分別所得之濃度各為 $C_1 \sim C_3$ 。
- (2) 分析未添加標準品溶液之標準湯劑之指標成分濃度 C_0 。
- (3) 依所求得之檢量線推算，求分析所得指標成分含量為添加入之百分率。

參、結果

一、黃耆藥材之浸膏萃取率及HPLC定量分析之比較

(一) 分析條件

1. Column：Inertsil 5 ODS-2, 4.6 I.D.×250 mm.
2. 移動相：10%及60% acetonitrile (各以磷酸調其pH值為2.8) 進行梯度沖提，沖提程式如表一。
3. 注入量：20 μ L.
4. 流速：1 mL/min.
5. 檢出波長：UV240 nm.

(二) HPLC之分離

由層析圖1所示，Calycosin 及Formononetin之滯留時間分別為29.80分及29.23分、內部標準物質honokiol之滯留時間為42.92分，在此分離條件下各成分之波峰未受到黃耆中其他成分干擾，均有良好分離效果。

(三) 確效試驗

表二~三為黃耆HPLC分析方法之intra-day、inter-day及recovery之確效試驗結果。Calycosin 及Formononetin在低、中、高濃度之intra-day及inter-day檢測結果，CV值有均小於5%，再現性良好（表二）。Recovery檢測則在83.45~102.68%之間，具有良好的回收率（表三）。

(四) 檢量線之製作

Calycosin：在1.56~50 μ g/mL濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 1.0908x - 0.052, r = 0.9998$$

Formononetin：在1.56~50 μ g/mL濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 1.0922x - 0.0618, r = 0.9998$$

Calycosin及Formononetin之檢量線均可得到良好的直線關係，並可求出Calycosin及Formononetin濃度及含量。

(五) 浸膏萃取率

表四結果顯示黃耆在5g、50g及500g不同藥材量、不同萃取溶媒及不同顆粒大小下，萃取率隨著藥材量的增加無論水及稀醇浸膏萃取率都有減少的趨勢。在顆粒大小方面，5g、50g的藥材量隨顆粒越小有浸膏萃取率逐漸增加的趨勢，但在50g較大的藥材量下其萃取率增加的趨勢則有趨緩的趨勢，500g的藥材量則隨著顆粒越小浸膏萃取率逐漸減少的趨勢。稀醇的浸膏萃取率高於水的浸膏萃取

率。

浸膏的萃取率在5g、50g藥材量均約在30%，但在500g藥材量稀醇的浸膏萃取率約25~27%，水的浸膏萃取率約20~22%，此結果顯示隨著藥材量的增加浸膏萃取率逐漸減少的趨勢。因浸膏的萃取率與濃縮製劑之濃縮倍數有密切關係，依中藥濃縮製劑基規定準濃縮倍數五倍~十倍，並必需在申請書表上表示，如超過此比例或未達此比例者，必需附送實驗資料以便審查。若依本研究結果藥材量少者較難達到規定，將藥材量放大將有助於達到規定濃縮倍數五倍~十倍的範圍內。

(六) 黃耆藥材之定量結果

表五為黃耆藥材在5g、50g及500g不同藥材量、不同萃取溶媒及不同顆粒大小下之Calycosin及Formononetin定量結果，結果顯示黃耆在稀醇萃取物中在5g及50g不同藥材量其Calycosin及Formononetin之含量都隨顆粒越小有逐漸增加的趨勢，但在水萃取物中其Calycosin及Formononetin之含量大都以4~10mesh的顆粒大小含量較高，之後隨藥材之顆粒越小有則含量有減少的趨勢。500g藥材量在不同萃取溶媒其Calycosin及Formononetin之含量則隨顆粒越小20mesh及20mesh以下有逐漸減少的趨勢。稀醇的萃取的成分含量高於水的萃取成分含量。

二、黃耆建中湯之HPLC分析

(一) 分析條件

1. Column：Inertsil 5 ODS-2, 4.6 I.D.×250mm.
2. 移動相：water及acetonitrile（各以磷酸調其pH值為2.8）進行梯度沖提，沖提程式如表六。
3. 注入量：20 μ L.
4. 流速：1mL/min.
5. 檢出波長：UV254 nm.

(二) HPLC之分離

由層析圖2所示，各指標成分paeoniflorin、calycosin、cinnamic acid、cinnamaldehyde、formononetin、glycyrrhizin、gingerol之滯留時間分別為16.94分、52.96分、55.01分、61.92分、74.05分、81.31分、84.24分，內部標準物質honokiol之滯留時間為98.27分，各指標成分之波峰純度經Photodiode array (PDA) detector確認波峰純度分別為0.9999、0.9991、0.9984、0.9986、0.9991、0.9982、0.9994均達

到可接受範圍（圖2B），且經標準湯劑缺黃耆、缺桂枝、缺芍藥、缺甘草及缺生薑等空白試驗，結果顯示在各指標成分之滯留時間均未出現波峰（圖3），在此分離條件下各成分之波峰未受到方劑中其他成分干擾，均有良好分離效果。

HPLC層析圖中部份成分之波峰較小如calycosin、cinnamic acid、formononetin、gingerol，其中calycosin、formononetin為黃耆之成分，而黃耆在黃耆建中湯藥材量僅1.5g，因此波峰較小。cinnamic acid及gingerol在桂枝及大棗中成分含量較少，因此也波峰較小。

(三) 確效試驗

表七~八為黃耆建中HPLC分析方法之intra-day、inter-day及recovery之確效試驗結果。paeoniflorin、calycosin、cinnamic acid、cinnamaldehyde、formononetin、glycyrrhizin、gingerol等七種成分在低、中、高不同濃度之intra-day及inter-day檢測結果，CV值有均小於5%，再現性良好（表七）。Recovery檢測則在86.33~114.88%之間，具有良好的回收率（表八）。

(四) 檢量線之製作

Paeoniflorin：在7.50~240 μ g/mL濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 1.0324x + 0.015, r = 0.9998$$

Calycosin：在0.78~50 μ g/mL濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 1.0323x - 0.0341, r = 0.9998$$

Cinnamic acid：在0.94~60 μ g/mL濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 1.0192x + 0.0187, r = 0.9999$$

Cinnamaldehyde：在1.56~100 μ g/mL濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 1.0479x - 0.031, r = 0.9993$$

Formononetin：在0.78~50 μ g/mL濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 1.031x - 0.0286, r = 0.9998$$

Glycyrrhizin：在3.44~220 μ g/mL濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 1.0452x + 0.04, r = 0.9999$$

Gingerol：在0.78~50 μ g/mL濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 1.111x - 0.0406, r = 0.9978$$

上述各成分之檢量線均可得到良好的直線關係，並可求出各成分濃度及含量。

(五) 浸膏萃取率 表九黃耆建中湯在1日、10日及100日的不同藥材量其稀醇、水

萃取及不同顆粒大小之萃取率比較之結果，結果顯示黃耆建中湯在1日藥材量其萃取率無論稀醇、水萃取都隨顆粒越小有浸膏萃取率逐漸增加的趨勢。但10日及100日藥材量較大的藥材量下其稀醇及水萃取之萃取率大都以10 mesh的顆粒大小萃取率較高，之後隨藥材之顆粒越小有則萃取率有減少的趨勢。稀醇的浸膏萃取率略高於水的浸膏萃取率。

(六) 黃耆建中湯之定量結果 表十為黃耆建中湯在不同藥材量、萃取溶媒及顆粒大小下其

指標成分paeoniflorin、calycosin、cinnamic acid、cinnamaldehyde、formononetin、glycyrrhizin、gingerol之HPLC定量結果，結果顯示黃耆建中湯在1日藥材量其各成分之含量大都隨顆粒越小其含量有逐漸增加的趨勢。但10日及100日藥材量較大的藥材量下其稀醇及水萃取之各成分含量，則大都以4~10mesh的顆粒大小其含量有較高趨勢，之後隨藥材之顆粒越小有則各成分含量有減少的趨勢。

肆、討論

黃耆及黃耆建中湯在不同藥材量其稀醇、水萃取及不同顆粒大小之萃取率及各指標成分之比較。結果顯示黃耆及黃耆建中湯隨藥材量的增加，浸膏萃取率及成分含量有減少的趨勢。顆粒大小則以4~10 mesh其萃取率及成分含量有較高的趨勢。因此在大量藥材的情況下，顆粒粉碎越小將不利於萃取及成分釋放，而以4~10 mesh顆粒大小將較利於萃取及成分釋放。

伍、結論與建議

一、結論

- (一) 黃耆以calycosin、formononetin為指標成分，黃耆建中以paeoniflorin、calycosin、cinnamic acid、cinnamaldehyde、formononetin、glycyrrhizin、gingerol等七種成分為指標成分，開發多成分同時分析之HPLC分析方法
- (二) HPLC分析方法之intra-day, inter-day, recovery等確效試驗，其準確度及再現性良好。
- (三) 完成各指標成分檢量線之製作，經回歸統計分析均可得到良好的直線性及相關系數。
- (四) 完成黃耆及黃耆建中湯在不同藥材量其稀醇、水萃取及不同顆粒大小之萃取率及各指標成分之比較。結果顯示黃耆及黃耆建中湯隨藥材量的增加，浸膏萃取率及成分含量有減少的趨勢。顆粒大小則以4~10 mesh其萃取率及成分含量有較高的趨勢。

二、建議

依本研究結果在大量藥材的情況下，顆粒粉碎越小將不利於萃取及成分釋放，而以4~10 mesh顆粒大小將較利於萃取及成分釋放，此結果將可提供藥廠參考。

誌謝

本研究計畫承蒙行政院衛生署中醫藥委員會，計畫編號CCMP97-RD-007提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

陸、參考文獻

1. 2001科技產業現況與市場趨勢研討會—生物技術及製藥產業、食品產業。
2. El-Sebakhy, N.A. Harraz, F.M. Abdallah, R.M. Asaad, A.M. Orsini, F. Pelizzoni, F. Sello, G. Verotta, L. 1990. Cycloartane triterpene glycosides from Egyptian *Astragalus* species. *Phytochemistry* 29 (10): 3271-3274.
3. Baratta, M.T. Ruberto, G. 1997. Cycloartane triterpene glycosides from *Astragalus siculus*. *Planta Medica* 63 (3): 280-282.
4. Lockwood, G.B. 1979. The major constituents of the essential oils of *Cinnamomum cassia* Blume growing in Nigeria. *Planta Medica*. 36 (4): 380-381.
5. Kakinuma, K. Koike, J. Kotami, K. Ikekawa, N. Kada, T. Nomoto, M. 1984. Cinnamaldehyde: identification of an antimutagen from a crude drug, cinnamoni cortex (*Cinnamomum cassia*). *Agricultural & Biological Chemistry*. 48 (7): 1905-1906.
6. Wu, H.K. Sheu, S.J. 1996. Capillary electrophoretic determination of the constituents of *Paeoniae Radix*. *Journal of Chromatography*. 753 (1): 139-146.
7. Okuyama, T. Takata, M. Takahashi, K. Ishikawa, T. Miyasaka, K. Kaneyama, N. 1989. High-performance liquid chromatographic analysis of naturally occurring glycosides and saponins. *Journal of Chromatography*. 466: 390-398.
8. Huang, H.Y. Kuo, K.L. Hsieh, Y.Z. 1997. Determination of cinnamaldehyde, cinnamic acid, paeoniflorin, glycyrrhizin and [6]-gingerol in the traditional Chinese medicinal preparation Kuei-chih-tang by cyclodextrin-modified micellar electrokinetic chromatography. *Journal of Chromatography*. 771 (1/2): 267-274.
9. Usai, M. Picci, V. Atzei, A.D. 1995. Glycyrrhizin variability in subterranean organs of Sardinian *Glycyrrhiza glabra* subspecies *Glabra* var. *glabra*. *Journal of Natural Products*. 58 (11): 1727-1729.
10. Chen, H.R. Sheu, S.J. 1993. Determination of glycyrrhizin and glycyrrhetic acid in traditional Chinese medicinal preparations by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography*. 653 (1): 184-188.
11. Fenwick, G.R. Lutomski, J. Nieman, C. Licorice, 1990. *Glycyrrhiza glabra* L.-composition, uses and analysis. *Food Chemistry*. 38 (2): 119-143.
12. He, X.G., M.W. Matthaw, L.Z. Lian, and L. Z. Lin. 1998. High-performance liquid chromatography-electrospray mass spectrometric analysis of pungent constituents of ginger. *Journal of Chromatography A*. 796: 327-334.

13. Yonei, Y and H. Ohinata. 1995. Extraction of ginger flavor with liquid or supercritical carbon dioxide. *The Journal of Supercritical Fluids*. 8: 156-161.
14. Fan, J.P. and C.H. He. 2006. Simultaneous quantification of three major bioactive triterpene acids in the leaves of *Diospyros kaki* by high-performance liquid chromatography method. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 41: 950-956.
15. Doelen, G.A., K.J. Berg, J.J. Boon, N. Shibayama, E. R. Rie, and W.J.L. Genu- it. Analysis of fresh triterpenoid resins and aged triterpenoid varnishes by High-performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization (tandem) mass spectrometry. 1998. *Journal of Chromatography A*. 809: 21-37.
16. 原田正敏，1989，繁用生藥之成分定量，廣川書店。
17. 高效液相層析儀（HPLC）、氣相層析儀（GC）之應用與實習講義，1995，財團法人製藥工業技術發展中心。

柒、圖、表

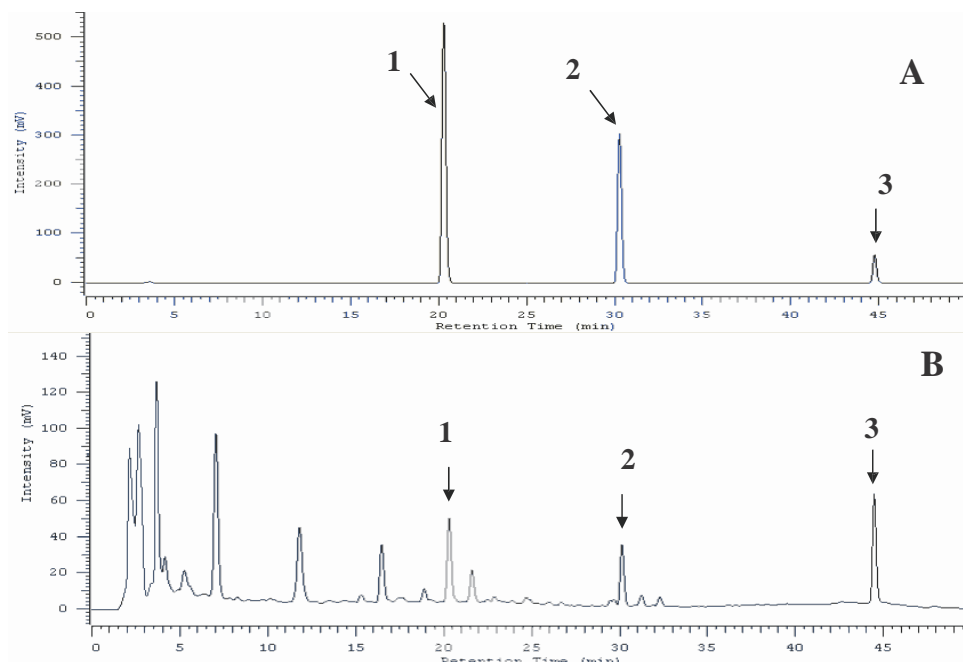


圖1 標準品溶液(A)與黃耆湯檢品溶液(B)之HPLC層析圖譜
1. calycosin 2. formononetin 3. IS: honokiol

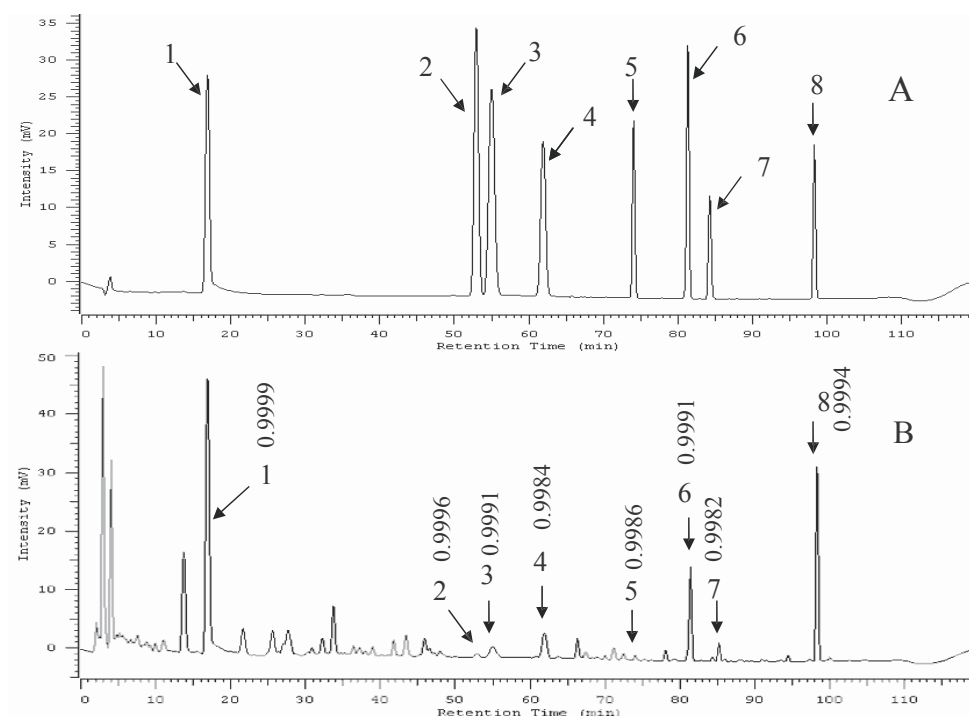


圖2 標準品溶液(A)與黃耆建中湯溶液(B)之HPLC層析圖譜及各成分之波峰純度
1. paeoniflorin 2. calycosin 3. cinnamic acid 4. cinnamaldehyde
5. formononetin 6. glycyrrhizin 7. gingerol 8. IS: honokiol

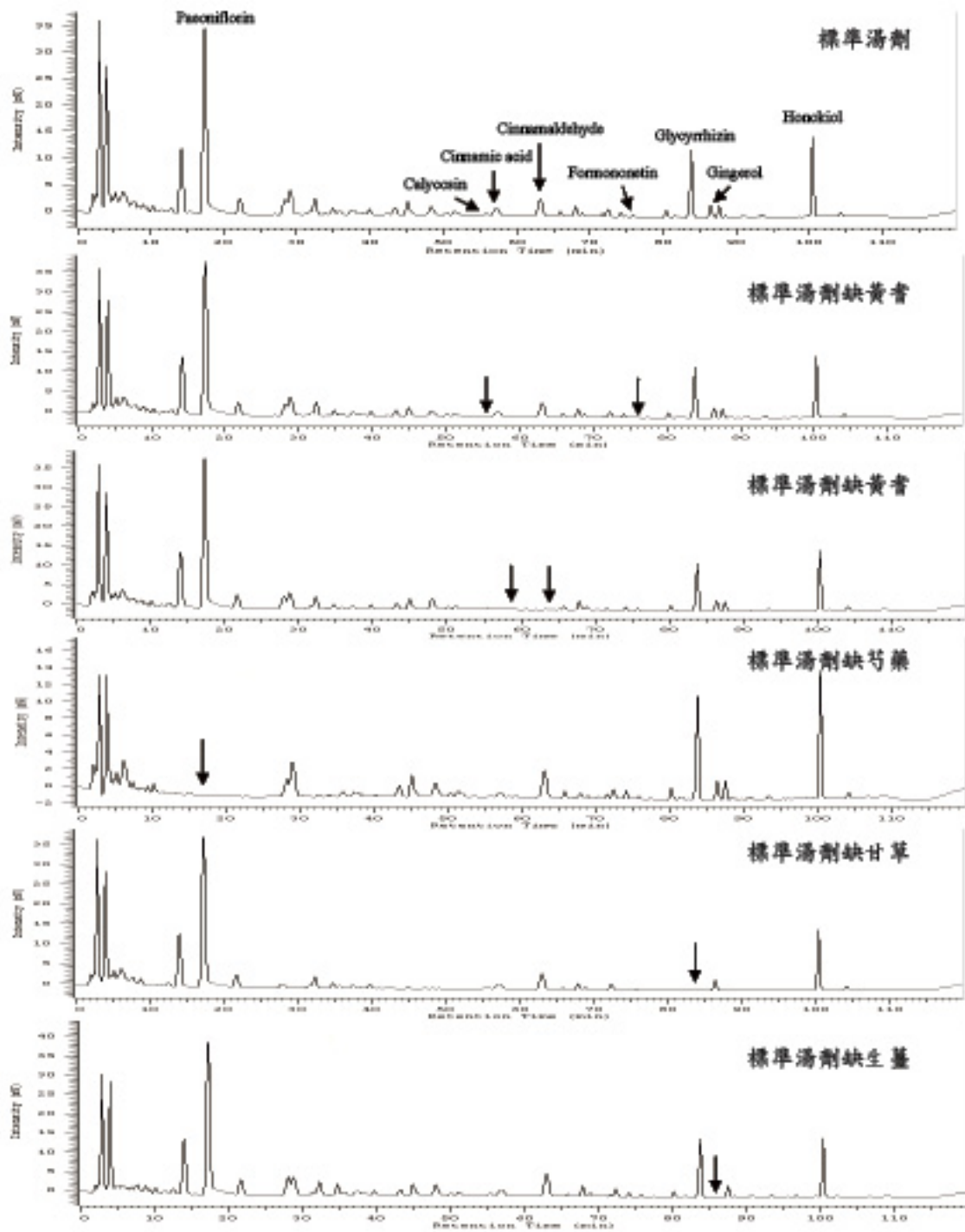


圖3 黃耆建中湯之空白試驗HPLC層析圖譜

表一、黃耆移動相之梯度沖提程式

Time (min)	Flow rate(mL/min)	10% acetonitrile (%)	60% acetonitrile (%)
0	1.0	80	20
10	1.0	70	30
15	1.0	60	40
20	1.0	48	52
30	1.0	30	70
40	1.0	0	100
50	1.0	80	20

表二、黃耆分析方法之同日間及異日間試驗

Compound	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	mean \pm S.D (R.S.D)	
		intra-day (n=3)	inter-day (n=4)
Calycosin	50.00	49.88 \pm 0.03 (0.06)	50.13 \pm 0.02 (0.04)
	6.25	5.80 \pm 0.02 (0.26)	5.74 \pm 0.01 (0.18)
	1.56	1.25 \pm 0.004 (0.36)	1.23 \pm 0.006 (0.46)
Formononetin	50.00	50.11 \pm 0.08 (0.16)	49.89 \pm 0.07 (0.15)
	6.25	5.78 \pm 0.02 (0.42)	5.77 \pm 0.01 (0.25)
	1.56	1.25 \pm 0.003 (0.27)	1.24 \pm 0.003 (0.27)

表三、黃耆分析方法之添加試驗

Compound	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Rrecovery (%)
		mean \pm S.D (R.S.D)
Calycosin	50.00	97.48 \pm 2.23 (2.28)
	6.25	95.36 \pm 3.19 (3.35)
	1.56	102.68 \pm 2.74 (2.67)
Formononetin	50.00	94.78 \pm 2.32 (2.45)
	6.25	87.36 \pm 1.21 (1.39)
	1.56	83.45 \pm 3.21 (3.85)

表四、黃耆在不同藥材量稀醇、水萃取及不同顆粒大小之萃取率比較

藥材量	顆粒大小	稀醇(g)	水(g)
5g	飲片	1.54±0.069 ^b (30.7%)	1.67±0.025 ^b (33.4%)
	4 mesh	1.53±0.025 ^b (30.6%)	1.57±0.027 ^d (31.4%)
	10 mesh	1.60±0.037 ^b (32.1%)	1.63±0.009 ^c (32.5%)
	20 mesh	1.61±0.015 ^b (32.2%)	1.66±0.014 ^{bc} (33.1%)
	20 mesh 以下	1.96±0.041 ^a (39.2%)	2.00±0.021 ^a (40.0%)
50g	飲片	14.79±0.621 ^c (29.5%)	15.14±1.257 ^a (30.2%)
	4 mesh	16.22±0.070 ^b (32.4%)	15.23±0.209 ^a (30.4%)
	10 mesh	16.16±0.427 ^b (32.3%)	15.23±0.802 ^a (30.4%)
	20 mesh	15.97±0.141 ^b (30.9%)	13.60±0.353 ^b (27.1%)
	20 mesh 以下	17.14±0.253 ^a (34.3%)	16.23±0.322 ^a (32.4%)
500g	飲片	124.25±2.26 ^b (24.85%)	101.97±2.53 ^c (20.39%)
	4 mesh	132.88±3.34 ^b (26.58%)	111.30±2.99 ^{ab} (22.26%)
	10 mesh	134.80±1.26 ^a (26.96%)	112.28±2.52 ^a (22.46%)
	20 mesh	136.05±2.18 ^c (27.21%)	108.93±3.17 ^{bc} (21.79%)
	20 mesh 以下	131.78±1.92 ^c (26.36%)	105.63±3.62 ^{bc} (21.12%)

Data represented as mean (%) ± S.D.

Means with different letters in the same column are significantly different (P<0.05) by Duncan,s multiple range test.

表五、黃耆在不同藥材量稀醇、水萃取及不同顆粒大小之成分含量比較

	藥材量	顆粒大小	稀醇(μg)	水(μg)
Calycosin	5g	飲片	397.97 \pm 6.94 ^d	80.58 \pm 2.77 ^{bc}
		4 mesh	427.19 \pm 39.56 ^{cd}	93.16 \pm 6.24 ^a
		10 mesh	462.02 \pm 6.28 ^{bc}	88.39 \pm 4.28 ^{ab}
		20 mesh	477.07 \pm 25.85 ^b	71.69 \pm 8.55 ^c
		20 mesh 以下	556.92 \pm 4.06 ^a	53.78 \pm 4.74 ^d
	50g	飲片	3631.52 \pm 133.55 ^d	1080.94 \pm 48.81 ^a
		4 mesh	3888.90 \pm 100.71 ^c	1015.40 \pm 44.79 ^a
		10 mesh	4349.04 \pm 139.36 ^b	1024.82 \pm 130.76 ^a
		20 mesh	4184.97 \pm 100.64 ^b	1043.95 \pm 78.77 ^a
		20 mesh 以下	4534.78 \pm 58.47 ^a	860.24 \pm 62.71 ^b
	500g	飲片	41715.48 \pm 250.18 ^c	8449.86 \pm 103.84 ^a
		4 mesh	40399.81 \pm 177.08 ^d	8095.74 \pm 32.74 ^b
		10 mesh	48678.62 \pm 274.79 ^b	7999.38 \pm 62.18 ^b
		20 mesh	50283.20 \pm 179.97 ^a	7748.56 \pm 52.62 ^c
		20 mesh 以下	50513.31 \pm 135.48 ^a	7571.10 \pm 27.96 ^d
Formononetin	5 g	飲片	467.26 \pm 70.78 ^c	55.78 \pm 7.35 ^a
		4 mesh	519.47 \pm 44.74 ^{bc}	62.18 \pm 8.63 ^a
		10 mesh	557.59 \pm 22.69 ^b	63.46 \pm 6.94 ^a
		20 mesh	566.34 \pm 20.54 ^b	40.23 \pm 8.53 ^b
		20 mesh 以下	653.70 \pm 28.31 ^a	30.57 \pm 5.26 ^b
	50 g	飲片	4378.69 \pm 119.49 ^d	777.32 \pm 30.63 ^a
		4 mesh	4812.22 \pm 116.03 ^c	661.04 \pm 51.32 ^{ab}
		10 mesh	5446.86 \pm 87.90 ^b	629.92 \pm 135.70 ^b
		20 mesh	5293.63 \pm 77.99 ^b	608.55 \pm 64.47 ^b
		20 mesh 以下	5982.98 \pm 118.63 ^a	521.48 \pm 7.76 ^b
	500 g	飲片	47812.96 \pm 371.45 ^d	4288.50 \pm 36.00 ^e
		4 mesh	49866.54 \pm 248.64 ^c	4999.48 \pm 77.36 ^b
		10 mesh	54251.31 \pm 359.67 ^{ab}	5574.48 \pm 65.58 ^a
		20 mesh	54599.25 \pm 262.66 ^a	4689.12 \pm 20.62 ^c
		20 mesh 以下	53712.99 \pm 223.94 ^b	4519.58 \pm 90.34 ^b

Data represented as mean ($\mu\text{g/g}$) \pm S.D.

Means with different letters in the same column are significantly different ($P < 0.05$) by Duncan, s multiple range test.

表六、黃耆建中湯移動相之梯度沖提程

Time (min)	Flow rate(mL/min)	10% acetonitrile (%)	60% acetonitrile (%)
0	1.0	94	6
5	1.0	94	6
20	1.0	92	8
35	1.0	73	27
45	1.0	71	29
55	0.5	67	33
65	1.0	52	48
75	1.0	43	57
85	1.0	32	68
95	1.0	10	90
105	1.0	0	100
115	1.0	97	3
120	1.0	97	3

!

表七、黃耆建中湯分析方法之同日間及異日間試驗

Compound	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	mean \pm S.D (R.S.D)	
		intra-day (n=3)	inter-day (n=4)
Paeoniflorin	240.00	235.35 \pm 1.26(0.53)	244.55 \pm 0.62(0.25)
	60.00	60.63 \pm 0.15(0.24)	61.29 \pm 0.17(0.27)
	7.50	7.66 \pm 0.02(0.28)	7.69 \pm 0.09(1.17)
Calycosin	50.00	49.78 \pm 0.45(0.90)	50.22 \pm 0.10(0.19)
	6.25	5.76 \pm 0.02(0.37)	5.80 \pm 0.02(0.30)
	0.78	0.61 \pm 0.001(0.20)	0.61 \pm 0.001(0.19)
Cinnamic acid	60.00	59.24 \pm 0.24(0.41)	60.77 \pm 0.10(0.16)
	7.50	7.57 \pm 0.44(0.58)	7.65 \pm 0.05(0.59)
	0.93	0.96 \pm 0.001(1.01)	0.96 \pm 0.003(1.34)
Cinnamaldehyde	100.00	99.55 \pm 0.88(1.47)	100.11 \pm 0.63(0.62)
	12.50	11.43 \pm 0.05(0.42)	12.03 \pm 0.02(0.14)
	1.56	1.29 \pm 0.04(3.32)	1.46 \pm 0.03(1.86)
Formononetin	50.00	49.85 \pm 0.45(0.89)	50.15 \pm 0.04(0.07)
	6.25	5.77 \pm 0.02(0.28)	5.77 \pm 0.01(0.25)
	0.78	0.61 \pm 0.002(0.31)	0.61 \pm 0.003(0.61)
Glycyrrhizin	220.00	217.48 \pm 0.36(0.17)	222.55 \pm 0.17(0.08)
	27.50	25.07 \pm 0.08(0.32)	27.49 \pm 0.09(0.32)
	3.44	3.12 \pm 0.01(0.43)	3.14 \pm 0.10(3.24)
Gingerol	50.00	50.01 \pm 0.71(1.47)	50.05 \pm 0.18(0.35)
	6.25	5.83 \pm 0.04(0.69)	6.08 \pm 0.01(0.23)
	0.78	0.72 \pm 0.011(1.58)	0.78 \pm 0.016(0.79)

表八、黃耆建中湯分析方法之添加試驗

Compound	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Rrecovery
		mean \pm S.D (R.S.D)
Paeoniflorin	240.00	105.63 \pm 0.66
	60.00	107.38 \pm 1.45
	7.50	109.79 \pm 1.96
Calycosin	50.00	102.49 \pm 0.74
	6.25	106.37 \pm 1.21
	0.78	112.42 \pm 2.76
Cinnamic acid	60.00	105.78 \pm 1.68
	7.50	98.46 \pm 3.41
	3.13	94.39 \pm 2.16
Cinnamaldehyde	100.00	93.23 \pm 2.53
	12.50	108.72 \pm 2.87
	1.56	86.33 \pm 3.83
Formononetin	50.00	104.61 \pm 1.27
	6.25	108.19 \pm 1.06
	0.78	111.52 \pm 2.94
Glycyrrhizin	220.00	101.67 \pm 0.89
	27.50	94.15 \pm 1.46
	3.44	89.58 \pm 1.97
Gingerol	50.00	98.76 \pm 1.45
	6.25	103.96 \pm 1.09
	0.78	114.88 \pm 2.53

表九、黃耆建中湯在不同藥材量稀醇、水萃取及不同顆粒大小之萃取率比較

藥材量	顆粒大小	稀醇 (g)	水(g)
1 日	飲片	4.02±0.37 ^b (21.71%)	4.32±0.15 ^a (23.33%)
	4 mesh	4.50±0.06 ^a (24.35%)	4.13±0.06 ^a (22.35%)
	10 mesh	4.62±0.09 ^a (24.98%)	4.22±0.05 ^a (22.82%)
	20 mesh	4.63±0.02 ^a (25.02%)	4.17±0.08 ^a (22.55%)
	20 mesh 以下	4.70±0.03 ^a (25.05%)	4.30±0.23 ^a (23.20%)
10 日	飲片	42.55±1.16 ^b (23.00%)	42.99±0.10 ^a (23.24%)
	4 mesh	44.49±0.70 ^a (24.05%)	43.85±1.15 ^a (23.70%)
	10 mesh	49.42±0.70 ^a (26.71%)	42.35±1.07 ^a (22.89%)
	20 mesh	48.84±0.87 ^a (26.40%)	40.82±0.79 ^b (22.06%)
	20 mesh 以下	48.63±0.91 ^a (26.29%)	42.40±0.58 ^a (23.02%)
100 日	飲片	351.01±5.67 ^c (18.97%)	335.33±6.49 ^a (18.13%)
	4 mesh	395.50±10.49 ^b (21.38%)	322.83±8.41 ^a (17.45%)
	10 mesh	413.50±8.95 ^a (22.35%)	317.83±6.34 ^a (17.18%)
	20 mesh	404.12±6.43 ^a (21.84%)	337.50±8.40 ^a (18.24%)
	20 mesh 以下	400.67±7.53 ^a (21.66%)	323.17±13.42 ^a (17.47%)

表十、黃耆建中湯在不同藥材量，稀醇、水萃取及不同顆粒大小之各成分
平均含量比較

	藥材量	顆粒大小	稀醇($\mu\text{g}/1$ 日份)	水($\mu\text{g}/1$ 日份)
Paeoniflorin	1 日份	飲片	123,124.45 \pm 5,562.14 ^a	29,900.98 \pm 3,747.02 ^a
		4 mesh	117,411.90 \pm 2,013.23 ^a	31,659.56 \pm 2,967.56 ^a
		10 mesh	116,635.90 \pm 2,200.88 ^a	31,676.97 \pm 3,056.90 ^a
		20 mesh	121,073.54 \pm 7,047.59 ^a	29,463.29 \pm 457.87 ^a
		20 mesh 以下	120,935.49 \pm 2,049.46 ^a	29,943.54 \pm 1,001.83 ^a
	10 日份	飲片	93,840.79 \pm 2,353.56 ^c	29,487.93 \pm 1,154.57 ^{bc}
		4 mesh	113,373.66 \pm 3,268.84 ^b	36,195.29 \pm 1,978.25 ^a
		10 mesh	122,986.59 \pm 7,168.67 ^a	31,189.29 \pm 602.89 ^b
		20 mesh	130,628.02 \pm 6,355.33 ^a	28,282.43 \pm 2,001.51 ^c
		20 mesh 以下	123,435.51 \pm 9,68.64 ^a	28,160.38 \pm 294.92 ^c
	100 日份	飲片	69,948.31 \pm 1,361.19 ^c	12,738.94 \pm 120.71 ^a
		4 mesh	84,162.93 \pm 320.87 ^d	13,418.68 \pm 231.75 ^a
		10 mesh	105,381.30 \pm 1,862.27 ^a	13,362.33 \pm 1,099.71 ^a
		20 mesh	87,396.92 \pm 495.35 ^c	13,138.61 \pm 129.87 ^a
		20 mesh 以下	98,438.86 \pm 974.40 ^b	12,759.01 \pm 858.12 ^a
Calycosin	1 日份	飲片	401.72 \pm 54.41 ^c	31.03 \pm 3.15 ^a
		4 mesh	462.23 \pm 26.14 ^b	20.94 \pm 2.44 ^b
		10 mesh	598.54 \pm 7.29 ^a	16.33 \pm 4.03 ^b
		20 mesh	590.69 \pm 41.60 ^a	19.37 \pm 2.59 ^b
		20 mesh 以下	568.25 \pm 5.01 ^a	18.04 \pm 2.18 ^b
	10 日份	飲片	453.04 \pm 7.07 ^{bc}	47.17 \pm 1.67 ^b
		4 mesh	462.57 \pm 69.04 ^b	54.90 \pm 1.85 ^a
		10 mesh	683.52 \pm 10.47 ^a	58.19 \pm 6.18 ^a
		20 mesh	687.09 \pm 22.13 ^a	27.29 \pm 5.63 ^c
		20 mesh 以下	392.70 \pm 19.42 ^c	24.23 \pm 2.23 ^c
	100 日份	飲片	437.43 \pm 3.07 ^b	34.15 \pm 3.29 ^a
		4 mesh	390.49 \pm 11.02 ^c	28.04 \pm 1.17 ^b
		10 mesh	450.88 \pm 15.49 ^b	16.76 \pm 1.38 ^c
		20 mesh	541.03 \pm 4.48 ^a	16.43 \pm 0.28 ^c
		20 mesh 以下	335.15 \pm 7.84 ^d	16.70 \pm 1.45 ^c
Cinnamic acid	1 日份	飲片	2,177.99 \pm 112.48 ^b	396.55 \pm 44.82 ^b
		4 mesh	1,912.08 \pm 137.65 ^c	414.79 \pm 63.34 ^b
		10 mesh	2,743.06 \pm 81.18 ^a	569.51 \pm 47.89 ^a
		20 mesh	2,667.29 \pm 167.26 ^a	432.10 \pm 39.06 ^b
		20 mesh 以下	2,765.57 \pm 57.46 ^b	514.45 \pm 18.46 ^a
	10 日份	飲片	2,115.17 \pm 29.28 ^b	406.78 \pm 20.86 ^{cd}
		4 mesh	2,203.07 \pm 158.52 ^b	450.30 \pm 26.68 ^b
		10 mesh	3,107.62 \pm 178.91 ^a	577.78 \pm 14.54 ^a
		20 mesh	3,262.65 \pm 193.65 ^a	398.18 \pm 44.07 ^d
		20 mesh 以下	1,979.40 \pm 14.04 ^c	412.84 \pm 16.91 ^c
	100 日份	飲片	2,581.25 \pm 140.07 ^b	149.98 \pm 31.45 ^c

		4 mesh	2,125.17±45.43 ^d	123.75±9.60 ^c
		10 mesh	2,285.16±43.51 ^c	246.31±22.17 ^a
		20 mesh	2,684.89±28.55 ^a	207.02±3.74 ^b
		20 mesh 以下	1,912.56±66.14 ^e	155.86±7.71 ^c
Cinnamaldehyde	1 日份	飲片	2,788.50±232.43 ^b	467.25±28.32 ^c
		4 mesh	2,703.64±303.55 ^a	685.09±49.51 ^a
		10 mesh	2,782.07±83.18 ^a	600.33±27.03 ^b
		20 mesh	3,061.37±300.53 ^a	457.60±45.31 ^c
		20 mesh 以下	3,059.63±130.31 ^a	344.31±14.07 ^d
	10 日份	飲片	3,127.94±41.30 ^b	1,127.52±39.72 ^a
		4 mesh	3,177.60±223.06 ^b	1,074.13±67.17 ^a
		10 mesh	3,272.74±166.81 ^b	835.36±36.84 ^b
		20 mesh	3,832.87±162.47 ^a	1,103.41±39.74 ^a
		20 mesh 以下	1,766.15±19.84 ^c	581.34±11.81 ^c
	100 日份	飲片	2,656.08±101.37 ^b	703.38±64.44 ^b
		4 mesh	2,405.20±45.52 ^c	828.75±10.34 ^a
10 mesh		2,464.18±24.38 ^c	791.01±58.62 ^a	
20 mesh		3,075.53±82.42 ^a	802.04±6.07 ^a	
20 mesh 以下		2,308.10±43.93 ^d	699.11±39.36 ^b	
Formononetin	1 日份	飲片	963.83±14.52 ^b	57.99±13.81 ^a
		4 mesh	1,137.43±00.87 ^{ab}	58.71±7.65 ^a
		10 mesh	1,213.71±155.34 ^a	58.44±14.93 ^a
		20 mesh	1,222.69±116.77 ^a	63.15±7.29 ^a
		20 mesh 以下	1,030.02±44.55 ^{ab}	56.32±6.04 ^a
	10 日份	飲片	792.06±17.85 ^{cd}	71.12±5.50 ^c
		4 mesh	735.17±35.57 ^d	82.80±9.27 ^{bc}
		10 mesh	1,316.03±56.52 ^b	95.96±13.03 ^a
		20 mesh	1,415.21±58.28 ^a	91.63±11.59 ^a
		20 mesh 以下	826.25±31.37 ^c	74.64±8.18 ^c
	100 日份	飲片	758.59±16.67 ^b	35.48±4.26 ^b
		4 mesh	699.99±9.56 ^c	38.43±5.29 ^b
10 mesh		756.80±15.34 ^b	47.92±8.76 ^a	
20 mesh		970.72±7.75 ^a	49.38±3.77 ^a	
20 mesh 以下		649.34±22.31 ^d	47.29±6.16 ^a	
Glycyrrhizin	1 日份	飲片	46,929.41±504.14 ^a	7,908.88±342.53 ^b
		4 mesh	40,241.92±582.76 ^b	6,205.43±621.39 ^c
		10 mesh	38,920.48±564.30 ^c	5,312.54±299.01 ^d
		20 mesh	40,608.49±1661.58 ^b	5,938.07±152.58 ^{cd}
		20 mesh 以下	39,244.11±481.68 ^b	5,681.42±69.11 ^a
	10 日份	飲片	49,198.98±1,017.83 ^a	10,180.44±389.67 ^a
		4 mesh	39,638.79±459.92 ^b	9,302.68±444.74 ^b
		10 mesh	39,674.91±2,337.87 ^b	6,769.24±88.22 ^c
		20 mesh	38,922.79±1,151.63 ^b	6,655.81±455.35 ^c
		20 mesh 以下	32,319.65±2,439.93 ^c	6,831.75±104.21 ^c
	100 日份	飲片	43,417.40±689.11 ^a	4,397.31±405.16 ^a
		4 mesh	37,145.37±365.48 ^c	3,268.79±66.13 ^b

		10 mesh	39,132.84±1798.78 ^b	3,021.09±301.07 ^b
		20 mesh	37,384.68±359.19 ^c	3,079.77±58.18 ^b
		20 mesh 以下	37,777.94±129.47 ^c	3,014.38±18.12 ^b
Gingerol	1 日份	飲片	6383.93±90.87 ^a	224.14±25.19 ^a
		4 mesh	5066.24±622.69 ^b	201.19±20.57 ^a
		10 mesh	6554.14±312.82 ^a	139.59±22.39 ^{bc}
		20 mesh	6010.28±299.77 ^a	113.41±7.48 ^c
		20 mesh 以下	6115.81±241.70 ^a	174.42±16.18 ^{ab}
	10 日份	飲片	2125.54±50.30 ^c	321.00±36.14 ^{ab}
		4 mesh	2631.99±76.82 ^b	286.29±38.24 ^b
		10 mesh	2468.15±63.77 ^b	335.92±7.23 ^a
		20 mesh	3662.77±173.20 ^a	265.63±16.02 ^b
		20 mesh 以下	1490.21±75.47 ^d	205.99±36.53 ^c
	100 日份	飲片	1,916.91±31.47 ^b	223.98±31.39 ^a
		4 mesh	1,821.45±28.32 ^b	170.52±21.24 ^b
		10 mesh	1,943.86±45.31 ^b	191.41±21.37 ^b
		20 mesh	2,311.26±85.99 ^a	182.03±12.59 ^b
		20 mesh 以下	1,116.08±48.47 ^c	114.46±9.18 ^c

Means with different letters in the same column are significantly different ($P<0.05$) by Duncan,s multiple range test.