

編號：CCMP92-RD-109

中藥藥膠布及藥酒製劑之成分分析及其釋出效應之研究 (3-3) 中藥藥膠布製劑之成分分析與品質管制之研究

賴宏亮

國立屏東科技大學

摘 要

使用逆相 HPLC 進行如意金黃散藥膠布之成分分析，開發出包含黃柏中 berberine、大黃中 emodin，sennoside A，sennoside B、薑黃中 curcumin、白芷中 imperatorin、厚朴中 magnolol、陳皮中 hesperidin 及甘草中 glycyrrhizin 等九種成分為指標成分之多成分同時定量分析方法。同時以油性及水性膠體等不同製程條件探討如意金黃散之品質影響。

本法之回收率，同日間及異日間的變異係數均在 5% 以下，回收率在 93.3% 以上。這個分析法對於如意金黃散藥膠布製劑中九種指標成分是安定且值得信賴之定量法。

關鍵詞：藥膠布、如意金黃散、HPLC

CCMP92-RD-109

Studies on the component and the effect of release of marker component in plaster formulas and tonic wine formulas. (3-3)- Studies on the component analysis and quality control in patch formulas preparation of Chinese herb medicine

Lay, Horng-Liang

National Pingtung University of Science & Technology

ABSTRACT

A facile HPLC method for the quality control of nine marker substances was established in the reversed-phase mode. These marker substances, the active ingredient in formula preparation of Ru-Yi-Jin-Huang-San, including berberine from *Phellodendri Cortex*, emodin, sennoside A, sennoside B from *Rhei Rhizoma*, curcumin from *Curcumae Rhizoma*, imperatorin from *Angelicae Dahuricae Radix*, magnolol from *Magnoliae Cortex*, hesperidin from *Citri Leiocarpae Exocarpium*, and glycyrrhizin in *Glycyrrhizae Radix* are resolved and quantitatively measured under the gradient elution. The formula either in the water-base or oil-base patch from different manufactures were also analyzed for quality evaluation. The relative standard deviations for intra- and inter-day analyses with the recoveries exceeding 93.3% were found less than 5%.

Keywords: Patch, Ru-Yi-Jin-Huang-San, HPLC.

壹、前言

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。在「研發中草藥的步驟與展望」第五項「進軍國際市場，開拓商機」中更明確指出健康食品、特殊療效的方藥、中藥化妝品、藥酒及貼布等均為值得發展之品項，其中貼布希望能擴大產能，以爭取貼布王國的雅號。因此，貼布產品將是未來發展之重點。產品之優劣取決於品質與有效性，在「研發中草藥的步驟與展望」第一項亦指出「提昇與管控中草藥的品質」，要推動中草藥，最先決條件要提昇與管控中草藥的品質，一旦中草藥品質參差不齊，就會影響到療效。行政院衛生署 公告“自民國九十年元月一日起，申請葛根湯、小青龍湯、加味逍遙散、桂枝湯、甘露飲、麻杏甘石湯、補中益氣湯、六味地黃丸、黃連解毒湯、獨活寄生湯等十個方濃縮製劑以及自民國九十二年二月一日起再公告增加知柏地黃丸、龍膽瀉肝湯、辛夷清肺湯、血府逐瘀湯、杞菊地黃丸、消風散、清心蓮子飲、四逆散、定喘湯、柴葛解肌湯等共二十個方濃縮製劑之國產及輸入新案藥品查驗登記及藥品許可證有效期間展延時，應依附件「中藥濃縮製劑制訂指標成分定量法及規格注意事項」檢附相關資料辦理，未能檢附該項資料者，新案無法獲准查驗登記，藥品許可證有效期限不得展延”。“中藥濃縮製劑制訂指標成分定量法及規格注意事項”中，規定每一處方中應選擇來自不同原料藥之二種以上指標成分予以定量，目前雖只公告葛根湯等二十個方劑須作指標成分之定量，但這是將來中草藥發展之必然趨勢。

藥膠布為中醫藥常用的製劑劑型，傳統製法是以麻油浸泡並加熱萃取，因此溫度、時間等萃取條件將是影響成分變化及產品製程的重要因素。92 年度本計畫將以如意金黃散常用之方劑為對象，開發藥膠布之各種指標成分 HPLC 分析方法，並經確效試驗之驗證，得到安定且值得信賴之定量法，建立檢驗標準，達到品質管制之目的，以確保製劑之正確性及有效性。

貳、材料與方法

一、材料

(一) 方劑

在外用藥膠布製劑中選擇常用的如意金黃散當模式藥(model drug)，進行用 HPLC 分析方法之開發。

(二) 處方依據

如意金黃散：衛生署公告中藥基準方

(三) 如意金黃散處方內容及藥材收集

1. 處方內容

枯樓根 25 g、黃柏 12.5 g、大黃 12.5 g、薑黃 12.5 g、白芷 12.5 g、厚朴 5 g、陳皮 5 g、甘草 5 g、蒼朮 5 g、生天南星 5 g。

2. 藥材收集

上述各方劑之藥材，配合整合型計畫統一採購。

(四) 指標成分及內部標準物質

1. 指標成分：

- (1) 黃柏：berberine⁽¹⁻⁴⁾自行單離純化。
- (2) 大黃：emodin, sennoside A, sennoside B⁽⁵⁻⁶⁾購自 Extrasynthese。
- (3) 薑黃：curcumin⁽⁷⁻⁸⁾購自 Sigma。
- (4) 白芷：imperatorin⁽⁹⁾自行單離純化。
- (5) 厚朴：magnolol⁽¹⁰⁻¹²⁾自行單離純化。
- (6) 陳皮：hesperidin⁽¹³⁻¹⁶⁾自行單離純化。
- (7) 甘草：glycyrrhizin⁽¹⁷⁻²⁰⁾購自米山藥品。

2. 內部標準物質：

paeonol (216 µg/mL)自行單離純化。

(五) 試藥及溶媒

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

二、方法

(一) 方劑萃取液之製備

稱取栝樓根 25 g、黃柏 12.5 g、大黃 12.5 g、薑黃 12.5 g、白芷 12.5 g、厚朴 5 g、陳皮 5 g、甘草 5 g、蒼朮 5 g、生天南星 5 g，進行下列處理：

1. 麻油萃取：將上述藥材加麻油 1000 mL 浸泡 24 小時，以 150℃ 加熱萃取 3 小時後，用紗布過濾並用麻油定量至 1000 mL，即為如意金黃散麻油萃取液。
2. 乙醇萃取：將上述藥材加乙醇 1000 mL 加熱迴流萃取 24 小時後，用紗布過濾並用乙醇定量至 1000 mL，即為如意金黃散乙醇萃取液。
3. 50% 乙醇萃取：將上述藥材加 50% 乙醇 1000 mL 加熱迴流萃取 24 小時後，用紗布過濾並用 50% 乙醇定量至 1000 mL，即為如意金黃散 50% 乙醇萃取液。
4. 水萃取：將上述藥材加水 1000 mL 加熱迴流萃取 24 小時後，用紗布過濾並用水定量至 1000 mL，即為如意金黃散水萃取液。
5. 高雄醫學大學藥膠布製品

由高雄醫學大學提供如意金黃散藥膠布製品為分析之樣品。

(二) 檢品製備

1. 麻油萃取：取上述製備如意金黃散麻油萃取液 100 mL，加 n-hexane 及 methanol 各 500 mL 進行分配層析並取 methanol 層，再將 methanol 層減壓濃縮乾後，定容至 50 mL 並添加一定濃度之內部標準物質後，經 0.45μm 過濾膜過濾成為 HPLC 定量分析之檢品。
2. 乙醇萃取：將上述製備如意金黃散乙醇萃取液經減壓濃縮後，以定量瓶定容至 50 mL 並添加一定濃度之內部標準物質後，經 0.45μm 過濾膜過濾成為 HPLC 定量分析之檢品。
3. 50% 乙醇萃取：將上述製備如意金黃散 50% 乙醇萃取液經減壓濃縮後，以定量瓶定容至 50 mL 並添加一定濃度之內部標準物質後，經 0.45μm 過濾膜過濾成為 HPLC 定量分析之檢品。
4. 水萃取：將上述製備如意金黃散水萃取液經減壓濃縮後，以定量瓶定容至 50 mL 並添加一定濃度之內部標準物質後，經 0.45μm 過濾膜過濾成為 HPLC 定量分析之檢品。
5. 高雄醫學大學藥膠布製品

由高雄醫學大學提供如意金黃散藥膠布製品，添加單片藥膠布重量

之 10 倍乙醇加以迴流萃取，經過濾、濃縮後，以定量瓶定容至 10 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 過濾膜過濾成為 HPLC 定量分析之檢品。

(三) Calibration curve 之建立⁽²¹⁻²²⁾

精確量取各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溶液，berberine 依序為 6.25、12.5.0、25.0、50.0、100.0 及 200.0 μ g/mL；sennoside B 為 0.625、1.25.0、2.5.0、5.0、10.0 及 20.0 μ g/mL；hesperidin 為 8.75、17.5、35.0、70.0、140.0 及 280.0 μ g/mL；sennoside A 為 5.0、10.0、20.0、40.0、80.0 及 160.0 μ g/mL；glycyrrhizin 為 7.5、15.0、30.0、60.0、120.0 及 240.0 μ g/mL；curcumin 為 11.25、22.5、45.0、90.0、180.0 及 360.0 μ g/mL；emodin 為 1.875、3.75、7.5、15.0、30.0 及 60.0 μ g/mL；imperatorin 為 1.875、3.75、7.5、15.0、30.0 及 60.0 μ g/mL；magnolol 為 1.25、2.5、5.0、10.0、20.0 及 40.0 μ g/mL。

上述各標準品溶液皆添加適量內部標準品，並經 0.45 μ m 濾膜過濾後，供製作標準曲線之溶液，各取 20 μ L 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)。

(四) 分析方法之確效試驗 (validation)⁽²¹⁻²²⁾

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，同一濃度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。

2. 回收率 (recovery)

(1) 取標準萃取液 1.5 mL，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、以黃柏 (berberine)、大黃 (emodin, sennoside A, sennoside B)、薑黃 (curcumin)、白芷 (imperatorin)、厚朴 (magnolol)、陳皮 (hesperidin) 及甘草 (glycyrrhizin) 等九種成分為指標成分，開發如意金黃散多成分同時分析之 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、完成麻油萃取、乙醇萃取、50%乙醇萃取、水萃取等不同溶媒之萃取條件及高雄醫學大學所製作之水性、油性如意金黃散貼劑等檢品之定量分析。

肆、討論

一、分析條件

1. Column : Inertsil 5 ODS-2, 4.6 I.D.×250mm.
2. 移動相：10%及 70% 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：1.0 mL/min.
5. 檢出波長：0~72 分鐘設定為 UV 275nm，73~105 分鐘為 UV 250nm，106~145 分鐘為 UV 220nm.
6. 溫度：30℃.

二、HPLC 之分離

以 berberine、emodin、sennoside A、sennoside B、curcumin、imperatorin、magnolol、hesperidin 及 glycyrrhizin 等九種成分為指標成分，已開發如意金黃散之 HPLC 分析方法。由層析圖一所示，標準方各指標成分之滯留時間各為：黃柏 berberine 之滯留時間為 48.51 分、大黃 sennoside B，sennoside A，emodin 之滯留時間分別為 55.51 分、69.64 分及 108.92 分、薑黃 curcumin 之滯留時間為 103.39 分及 102.99 分、白芷 imperatorin 之滯留時間為 111.14 分、厚樸 magnolol 之滯留時間為 113.63 分、陳皮 hesperidin 之滯留時間為 68.96 分及甘草 glycyrrhizin 之滯留時間為 95.25 分，內部標準物質 paeonol 為 84.34 分，並經標準方缺黃柏、大黃、薑黃、白芷、厚朴、陳皮及甘草之確認，且各指標成分之波峰純度經 PDA detector 確認均達到可接受範圍，顯示在此分離條件下顯示七個指標成分之波峰未受到方劑中其他成分干擾，且均有良好分離效果(圖二~四)。圖五~六各為綠云膏麻油萃取、ethanol 萃取、50% ethanol 萃取、水萃取、油性貼布及水性貼布之 HPLC 層析圖，亦均顯現良好分離效果。故本分析方法應可做為如意金黃散製程及產品品質檢測之條件。

三、確效試驗

表二、三為 intra-day、inter-day 及 recovery 之確效試驗結果。各指標成分在低、中、高濃度之 intra-day 及 inter-day 檢測結果，inter-day 之 CV 值有大於 intra-day 之傾向，整體而言均小於 5%，再現性良好。recovery 檢測則在 93.30 \pm 2.30~113.63 \pm 0.79 之間，具有良好的回收率。

四、檢量線之製作

Berberine 在 6.25~200.0 µg/mL 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0279x - 0.1469 \quad (r = 0.9996, n = 5).$$

Sennoside B 在 0.625~20.0 µg/mL 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0108x + 0.00007 \quad (r = 0.9998, n = 5).$$

Hesperidin 在 8.75~280.0 µg/mL 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0056x + 0.0219 \quad (r = 0.9996, n = 5).$$

Sennoside A 在 5.0~160.0 µg/mL 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0169x + 0.0021 \quad (r = 0.9997, n = 5).$$

Glycyrrhizin 在 7.5~240 µg/mL 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0044x - 0.0045 \quad (r = 0.9994, n = 5).$$

Curcumin 在 11.25~360.0 µg/mL 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0155x + 0.0382 \quad (r = 0.9999, n = 5) \text{ (high concentration).}$$

$$y = 0.0163x + 0.0039 \quad (r = 0.9999, n = 5) \text{ (low concentration).}$$

Emodin 在 1.875~60.0 µg/mL 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 103744x + 41739 \quad (r = 0.9997, n = 5).$$

Imperatorin 在 1.875~60.0 µg/mL 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0527x + 0.0466 \quad (r = 0.9995, n = 5).$$

Magnolol 在 1.25~40.0 µg/mL 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0668x + 0.0219 \quad (r = 0.9999, n = 5).$$

以上各指標成分之檢量線均可得到良好的直線關係，並可求出各指標成分濃度及含量。

五、定量結果

表四、五為如意金黃散四種不同溶媒萃取及高雄醫學大學製造之兩種貼布，其九種指標成分含量分析之結果，分述如下：

1. 四種不同溶媒萃取之成分含量變化

Berberine：50% ethanol > ethanol > 水 > 麻油

Sennoside B：50% ethanol > ethanol > 水 > 麻油

Hesperidin：50% ethanol > ethanol > 水 > 麻油

Sennoside A：50% ethanol > ethanol > 水 > 麻油

Glycyrrhizin：50% ethanol > ethanol > 水 > 麻油

Curcumin：ethanol > 50% ethanol > 水 > 麻油

Emodin：麻油 > ethanol > 50% ethanol > 水

Imperatorin：ethanol>50% ethanol>水>麻油

Magnolol：ethanol>50% ethanol>水>麻油

以上結果顯示如意金黃散之最佳溶媒為 50%ethanol，其次為 ethanol。

2.高雄醫學大學製造兩種貼布之成分含量變化

(1) 水性貼布：在 HPLC 層析圖中可偵測到 berberine、hesperidin、sennoside A、glycyrrhizin、emodin 及 magnolol 等六種成分，其含量為 $0.09\pm1.06\sim0.80\pm0.23$ mg/one piece。

(2) 油性貼布：在 HPLC 層析圖中可偵測到 berberine、sennoside B、hesperidin、glycyrrhizin、emodin、curcumin 及 magnolol 等六種成分，其含量為 $0.002\pm4.32\sim2.32\pm0.78$ mg/one piece。

伍、結論與建議

一、結論

(一) 如意金黃散以黃柏(berberine)、大黃(emodin, sennoside A, sennoside B)、薑黃(curcumin)、白芷(imperatorin)、厚朴(magnolol)、陳皮(hesperidin)及甘草(glycyrrhizin)等九種成分為指標成分，及以 paeonol 為內部標準物質，開發如意金黃散之 HPLC 分析方法並經 intra-day、inter-day 及 recovery 等確效試驗、顯示其準確度及再現性良好，是值得信賴且穩定的分析方法，可應用於分析如意金黃散之貼布製程及產品間成分之變化，達到品質管制之目的。

(二) 如意金黃散萃取之最佳溶媒為 50% ethanol，其次為 ethanol。

二、建議

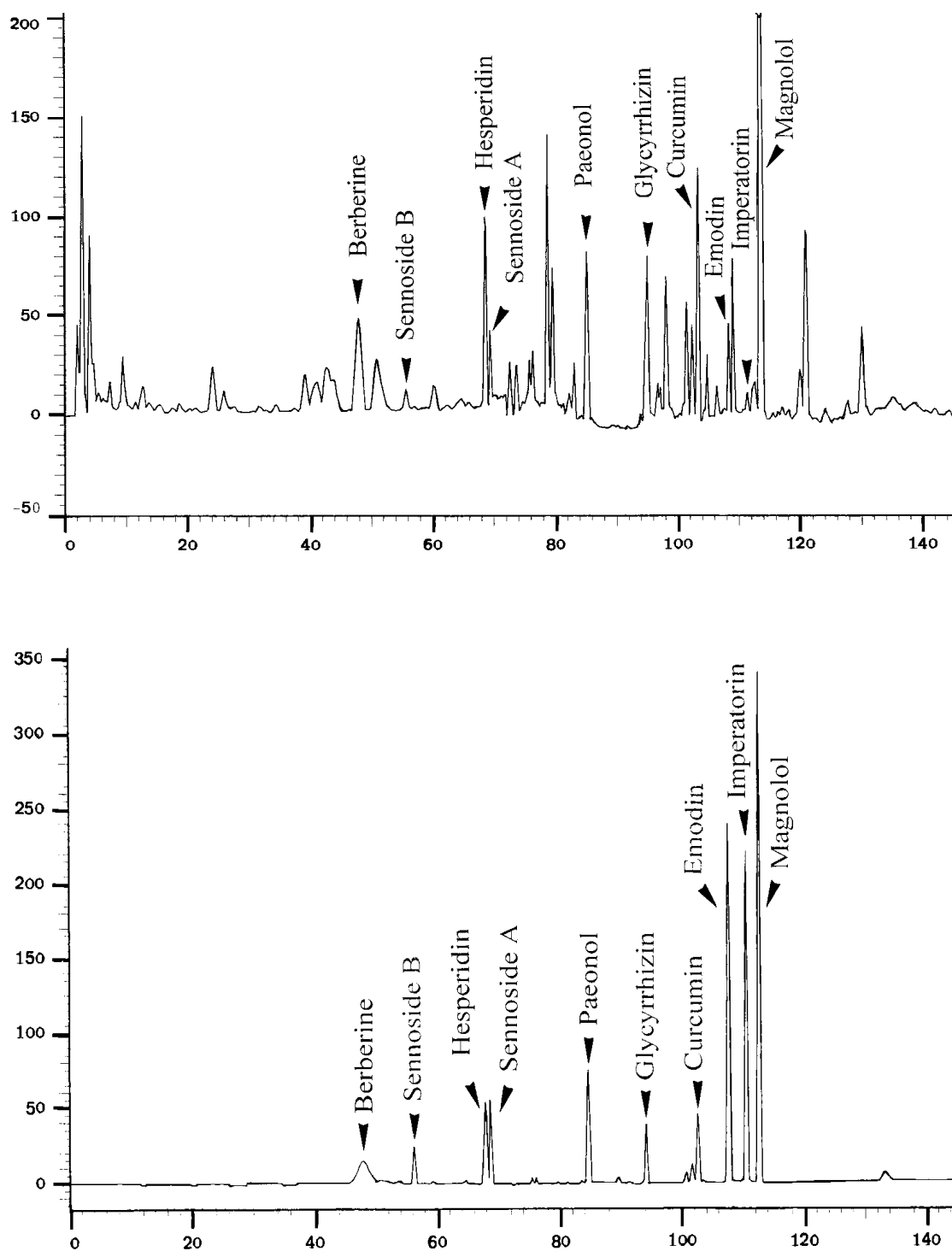
傳統藥膠布之萃取溶媒以麻油為主，本計畫之成果中如意金黃散萃取之最佳溶媒為 ethanol 或 50% ethanol，而麻油之萃取並不理想，若能配合藥理試驗或毒理試驗，證明其有效性及安全性，可建議考慮開放以 ethanol 或 50% ethanol 萃取製造產品。

陸、參考文獻

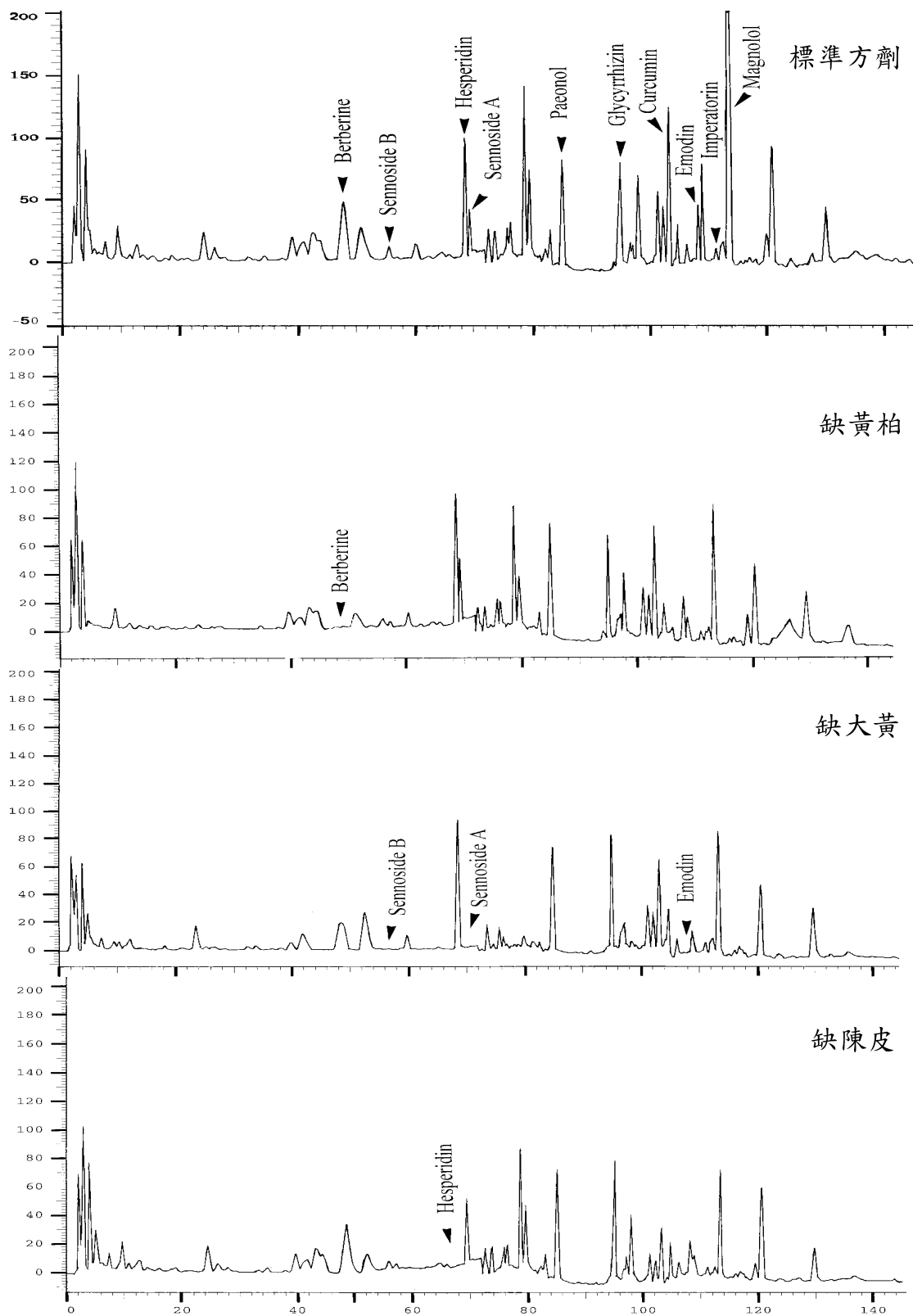
1. Hattori, T. Kamiya, N. Inoue, M. and Hayakawa, M. 1977. Determination of Berberine in Coptidis Rhizoma by High Performance Liquid Chromatography. *Yakugaku Zasshi* 97(12) : 1305-1308.
2. Ishigawa, O. Hashimoto, T. Nakajima, T. Osawa, T. and Itokawa, H. 1978. Application of High-speed Liquid Chromatography to Analysis of Crude Drugs : Quaternary Alkaloids of Coptidis Rhizoma and Phellodendri Cortex. *Yakugaku Zasshi* 98(7) : 976-979.
3. Yoneda, K. Yamagata, E. Miyaura, M. Hua, L. and Mizuno, M. 1987. Quantitative Analysis of Berberine Type Alkaloids and Japanese Coptidis Rhizoma. *Shoyakugaku Zasshi* 41(3) : 205-208.
4. Yoneda, K. Yamagata, E. Hua, L. and Mizuno, M. 1988. Morphological Studies and Constituents of Berberine Type Alkaloids of Chinese Coptidis Rhizoma. *Shoyakugaku Zasshi* 42(2) : 116-121.
5. Yim, H. Lee, Y.H. Lee, C.H. Lee, S.K. 1999. Emodin, an anthraquinone derivative isolated from the rhizomes of *Rheum palmatum*, selectively inhibits the activity of casein kinase II as a competitive inhibitor. *Planta Medica*. 65 (1) : 9-13.
6. Ohshima, Y. Takahashi, K. Shibata, S. 1988. Tissue culture of rhubarb and isolation of sennosides from the callus. *Planta Medica*. 54 (1) : 20-24.
7. Gupta, A.P. Gupta, M.M. Kumar, S. 1999. Simultaneous determination of curcuminoids in Curcuma samples using high performance thin layer chromatography. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* 22 (10) : 1561-1569.
8. He, X.G. Lin, L.Z. Lian, L.Z. Lindenmaier, M. Liquid chromatography-electrospray mass spectrometric analysis of curcuminoids and sesquiterpenoids in turmeric (*Curcuma longa*). *Journal of Chromatography* 818 (1) : 127-132.
9. Qiao, S.Y. Yao, X.S. Wang, Z.Y. 1996. Coumarins of the roots of *Angelica dahurica*. *Planta Medica*. 62 (6) : 584.
10. Suto, K. Ito, Y. Sagara, K. Itokawa, H. 1997. Determination of magnolol and honokiol in Magnoliae Cortex using supercritical fluid chromatography on-line coupled with supercritical fluid extraction by on-column trapping. *Journal of Chromatography* 786 (2) : 366-370.
11. Chou, C.Y.C. Tsai, T.H. Lin, M.F. Chen, C.F. 1996. Simultaneous determination of honokiol and magnolol in magnolia officinalis by capillary zone electrophoresis. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* 19 (12) : 1909-1915.

12. Tsai, T.H. Chen, C.F. 1992. Identification and determination of honokiol and magnolol from *Magnolia officinalis* by high-performance liquid chromatography with photodiode-array UV detection. *Journal of Chromatography* 598(1) : 143-146.
13. 土田貴志，山本知枝，山本惠一，人見信之，小阪昇，鹿野英士，岡田正道，小松勝子，難波恒雄。1996。 *Nature Medicines* 50 (2) : 114-127.
14. 川原一仁，田中俊弘。1996。 *Nature Medicines* 50 (6) : 371-377.
15. 土田貴志，山本知枝，山本惠一，人見信之，小阪昇，岡田正道，小松勝子，難波恒雄。1997。 *Nature Medicines* 51 (3) : 205-223.
16. 土田貴志，山本知枝，山本惠一，人見信之，小阪昇，岡田正道，小松勝子，難波恒雄。1997。 *Nature Medicines* 51 (3) : 231-243.
17. 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.
18. 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.
19. 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.
20. Fenwick, G.R. Lutomski, J. Nieman, C. Liquorice, 1990. *Glycyrrhiza glabra* L. — composition, uses and analysis. *Food Chemistry*. 38 (2) : 119-143.
21. 原田正敏。1989。繁用生藥之成分定量，廣川書店。
22. 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。

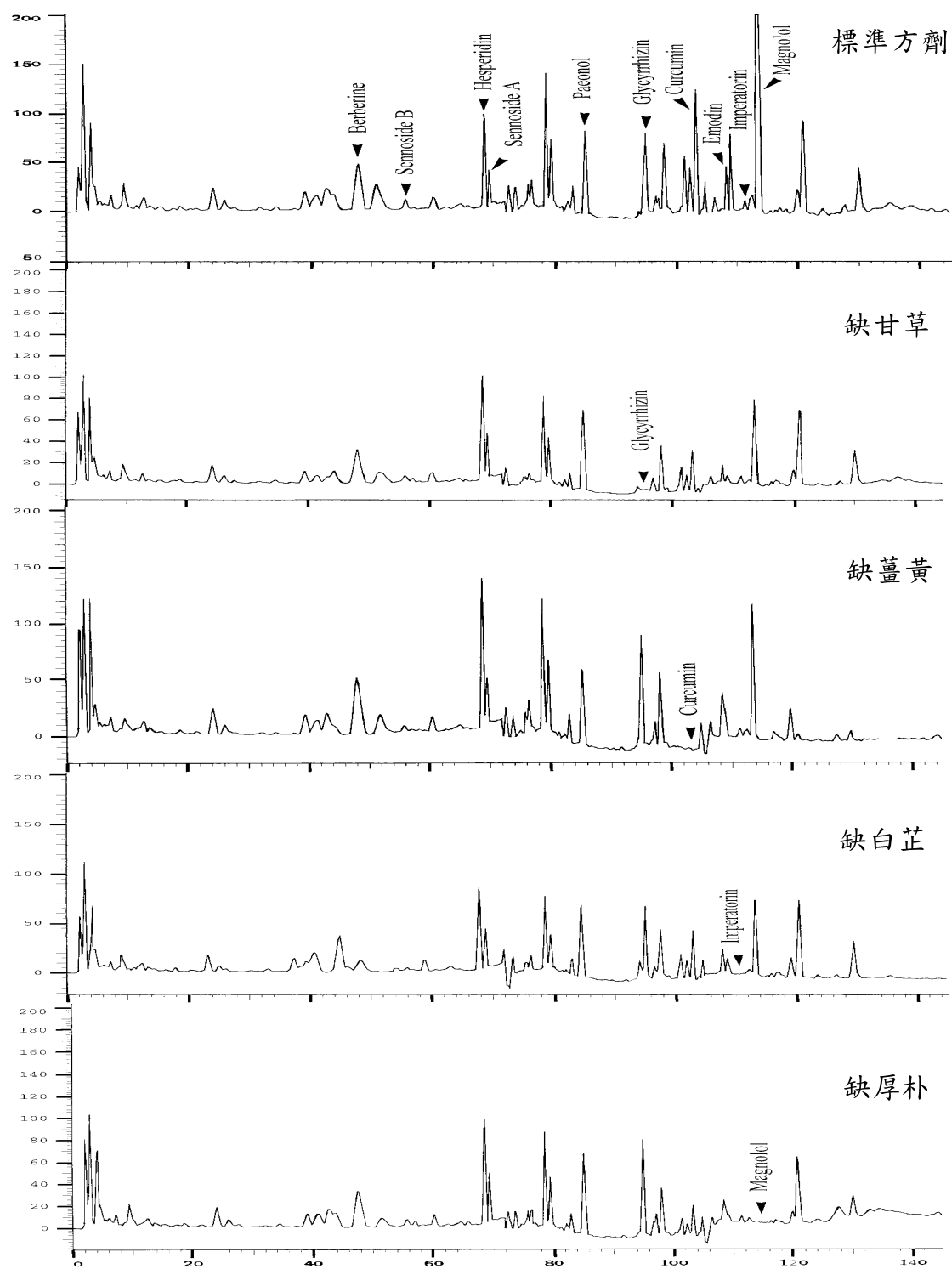
柒、圖、表



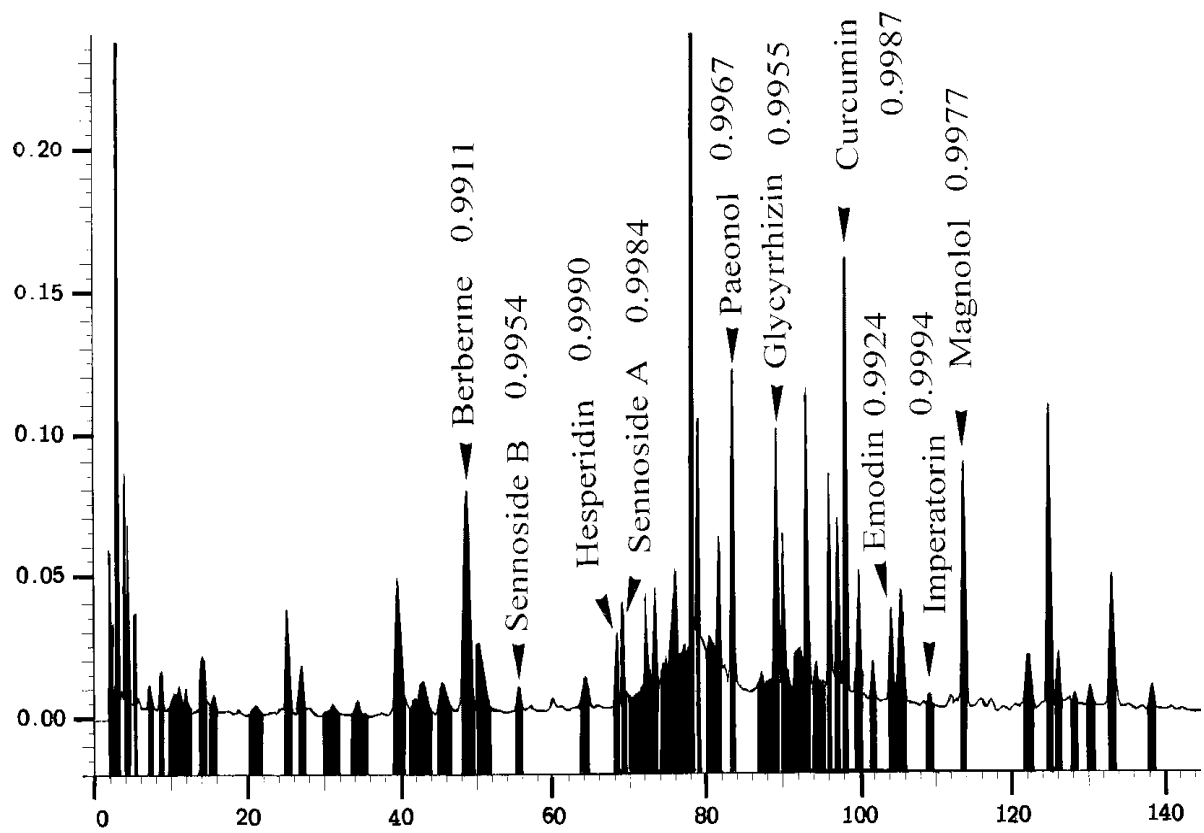
圖一、如意金黃散標準方劑與各指標成分之 HPLC 層析圖



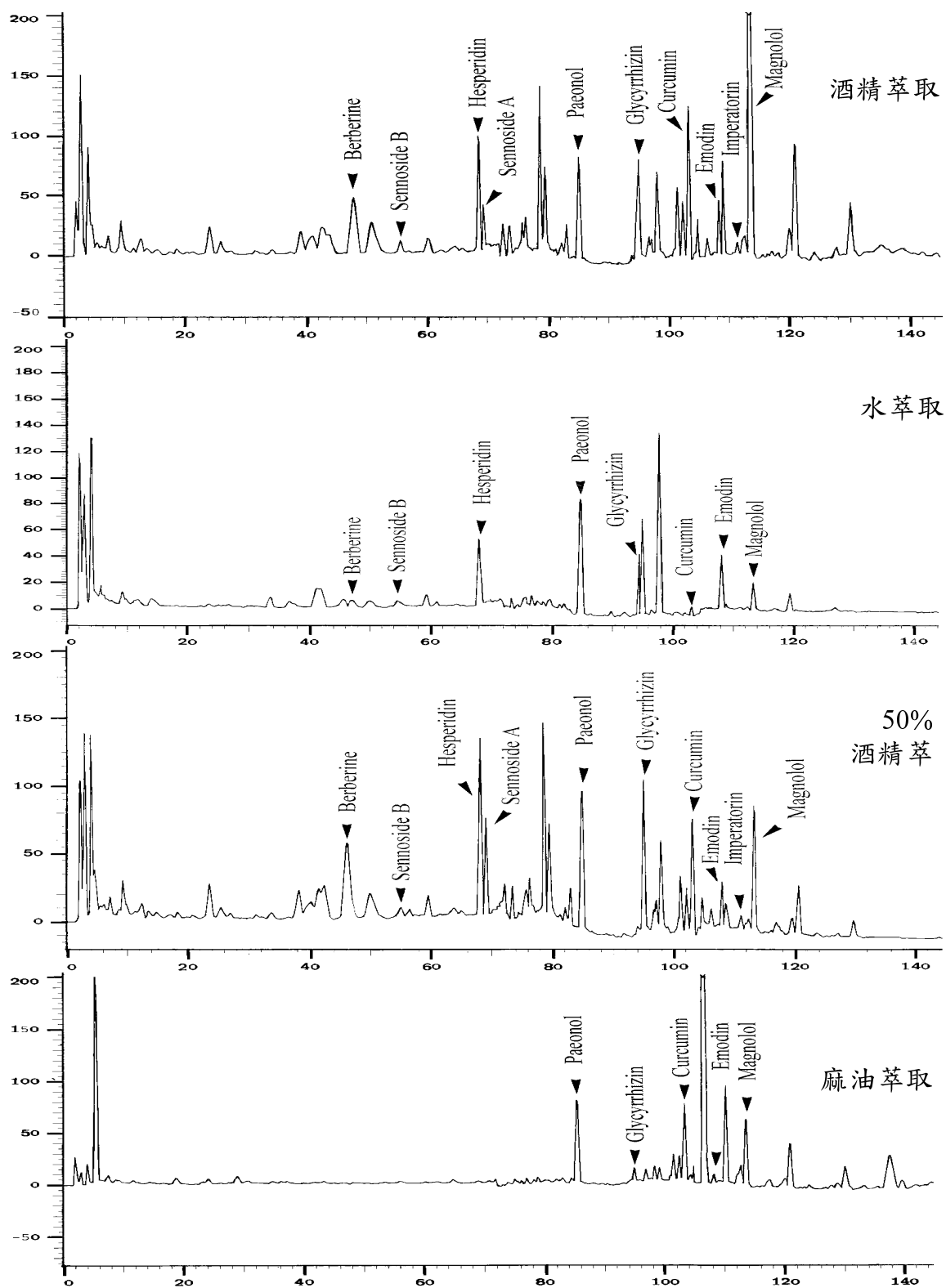
圖二、如意金黃散標準方劑與標準方劑中缺黃柏、
大黃及陳皮之 HPLC 層析圖



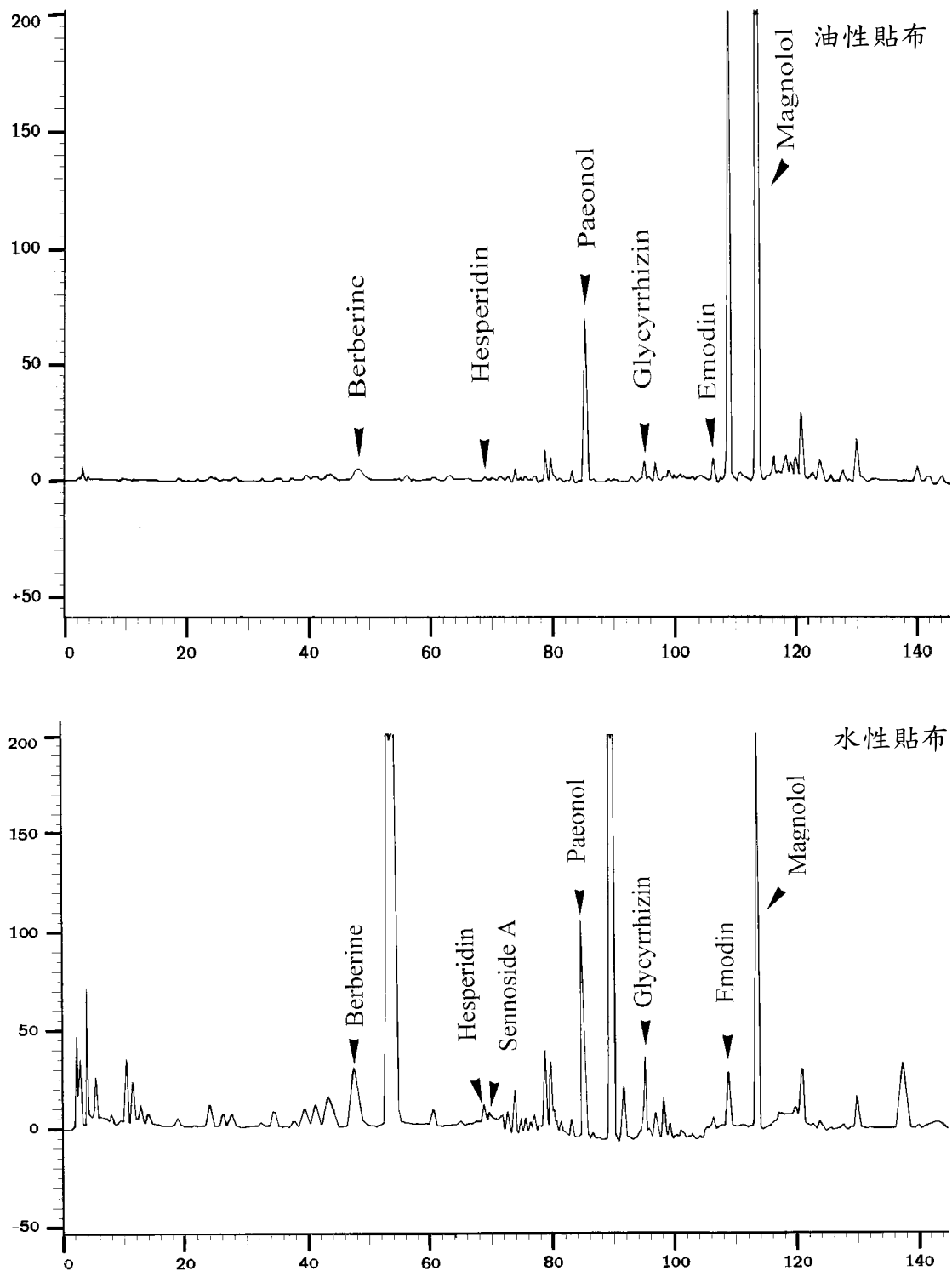
圖三、如意金黃散標準方劑與標準方劑中缺甘草、薑黃、白芷及厚朴之 HPLC 層析圖



圖四、如意金黃散標準方劑與各指標成分之 PDA-HPLC 層析圖



圖五、如意金黃散不同萃取方法之 HPLC 層析圖



圖六、如意金黃散水性及油性藥膠布之 HPLC 層析圖

表一、如意金黃散移動相之梯度沖提程式

| Time (min) | Flow rate (mL/min) | Mobile phase A (%) | Mobile phase B (%) |
|---------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 0 | 1.0 | 97 | 3 |
| 10 | 1.0 | 97 | 3 |
| 25 | 1.0 | 94 | 6 |
| 36 | 1.0 | 94 | 6 |
| 45 | 1.0 | 88 | 6 |
| 50 | 1.0 | 87 | 12 |
| 60 | 1.0 | 87 | 13 |
| 70 | 1.0 | 70 | 30 |
| 75 | 1.0 | 57 | 43 |
| 80 | 1.0 | 55 | 4 |
| 88 | 1.0 | 55 | 45 |
| 90 | 1.0 | 40 | 60 |
| 100 | 1.0 | 28 | 72 |
| 106 | 1.0 | 15 | 85 |
| 110 | 1.0 | 15 | 85 |
| 120 | 1.0 | 10 | 90 |
| 130 | 1.0 | 0 | 100 |
| 40 | 1.0 | 0 | 100 |
| 145 | 1.0 | 97 | 3 |

A: 10% acetonitrile (adjusted to pH 2.8 with phosphoric acid).

B: 70% acetonitrile (adjusted to pH 2.8 with phosphoric acid).

表二、如意金黃散分析方法之同日間及異日間試驗

| Compound | Concentration (μ g/mL) | CV(%) | |
|--------------|--------------------------------|-----------------|-----------------|
| | | intra-day (n=5) | inter-day (n=4) |
| Berberine | 200.00 | 0.12 | 0.65 |
| | 50.00 | 0.44 | 1.01 |
| | 12.50 | 0.24 | 1.33 |
| Sennoside B | 20.00 | 1.26 | 1.31 |
| | 5.00 | 1.11 | 0.81 |
| | 1.25 | 1.36 | 1.65 |
| Hesperidin | 280.00 | 1.36 | 0.74 |
| | 70.00 | 0.56 | 0.31 |
| | 17.50 | 2.05 | 0.89 |
| Sennoside A | 160.00 | 1.31 | 1.05 |
| | 40.00 | 0.59 | 1.68 |
| | 10.00 | 0.41 | 1.25 |
| Glycyrrhizin | 240.00 | 1.42 | 1.37 |
| | 60.00 | 1.19 | 0.41 |
| | 15.00 | 1.52 | 1.88 |
| Curcumin | 360.00 | 0.88 | 0.55 |
| | 90.00 | 1.22 | 0.46 |
| | 22.50 | 1.25 | 0.53 |
| Emodin | 60.00 | 0.51 | 0.43 |
| | 15.00 | 0.59 | 0.43 |
| | 3.75 | 0.33 | 0.54 |
| Imperatorin | 60.00 | 0.54 | 0.58 |
| | 15.00 | 0.25 | 0.33 |
| | 3.75 | 0.33 | 0.41 |
| Magnolol | 40.00 | 0.52 | 0.54 |
| | 10.00 | 0.16 | 1.89 |
| | 2.500 | 1.64 | 0.37 |

表三、如意金黃散分析方法之添加試驗

| Compound | Added (mg/mL) | Found ^{a)} (mg/mL) | Recovery (%) |
|--------------------|---------------|-----------------------------|--------------|
| Berberine | 200.00 | 207.12 | 103.56±0.44 |
| | 50.00 | 53.07 | 106.13±0.55 |
| | 12.50 | 13.60 | 109.00±0.93 |
| Sennoside B | 20.00 | 20.12 | 100.58±0.54 |
| | 5.00 | 5.39 | 107.81±0.22 |
| | 1.25 | 1.35 | 108.58±0.46 |
| Hesperidin | 280.00 | 285.07 | 101.81±3.76 |
| | 70.00 | 75.12 | 107.31±2.57 |
| | 17.50 | 16.52 | 94.40±3.38 |
| Sennoside A | 160.00 | 159.28 | 99.55±3.50 |
| | 40.00 | 39.42 | 98.55±4.41 |
| | 10.00 | 9.33 | 93.30±2.30 |
| Glycyrrhizin | 240.00 | 255.70 | 106.54±0.21 |
| | 60.00 | 65.19 | 108.65±0.06 |
| | 15.00 | 17.04 | 113.63±0.79 |
| Curcumin | 360.00 | 365.62 | 101.56±0.64 |
| | 90.00 | 93.72 | 104.13±0.35 |
| | 22.50 | 25.08 | 111.47±0.93 |
| Emodin | 60.00 | 60.34 | 100.56±0.54 |
| | 15.00 | 16.17 | 107.80±0.22 |
| | 3.75 | 4.08 | 108.80±0.46 |
| Imperatorin | 60.00 | 64.15 | 106.92±3.76 |
| | 15.00 | 16.10 | 107.33±2.57 |
| | 3.75 | 3.61 | 96.27±3.38 |
| Magnolol | 40.00 | 39.86 | 99.65±1.23 |
| | 10.00 | 10.00 | 100.00±1.08 |
| | 2.50 | 2.73 | 109.36±1.33 |

a) : Mean, n=7 ; b) : Mean±S.D., n=7

表四、如意金黃散不同萃取方法之定量分析

| Compound | Sesame oil | Ethanol | 50% Ethanol | Water |
|--------------|-------------|--------------|-------------|-------------|
| Berberine | -- | 77.20±0.45 | 75.11±0.32 | 11.17±0.10 |
| Sennoside B | -- | 4.94±0.02 | 7.55±0.26 | 1.14±1.08 |
| Hesperidin | -- | 182.72±1.33 | 232.91±1.81 | 123.34±0.74 |
| Sennoside A | -- | 27.54±2.21 | 79.38±2.39 | -- |
| Glycyrrhizin | 117.46±1.68 | 139.85±0.98 | 225.33±0.89 | 128.38±1.72 |
| Curcumin | 93.72±1.48 | 233.32± 1.26 | 60.96±2.65 | 4.53±2.25 |
| Emodin | 11.41±1.80 | 9.62±3.20 | 9.36± 1.81 | 5.73±2.25 |
| Imperatorin | -- | 24.03±1.05 | 6.36±2.05 | -- |
| Magnolol | 1.47±0.14 | 32.37±3.61 | 22.18±2.14 | 4.42±2.16 |

Data represented as mean (mg/one dose)±C.V. value (%)

表五、如意金黃散水性及油性貼布之定量分析

| Compound | 水性貼布 | 油性貼布 |
|--------------|-----------|------------|
| Berberine | 0.58±1.25 | 0.12±0.19 |
| Sennoside B | -- | 0.02±1.38 |
| Hesperidin | 0.25±0.12 | 0.02±1.20 |
| Sennoside A | 0.09±1.06 | -- |
| Glycyrrhizin | 0.80±0.23 | 0.28±0.89 |
| Curcumin | -- | 0.002±4.32 |
| Emodin | 0.12±2.22 | 0.45±2.82 |
| Imperatorin | -- | -- |
| Magnolol | 0.46±0.48 | 2.32±0.78 |

Data represented as mean (mg/one piece)±C.V. value (%)

編號：CCMP90-RD-009、CCMP91-RD-112、CCMP92-RD-109

中藥藥膠布及藥酒製劑之成分分析及其釋出效應之研究（1-3~3-3）中藥藥膠布製劑之成分分析與品質管制之研究

賴宏亮

國立屏東科技大學

摘 要

藥膠布及藥酒為中醫藥常用的製劑劑型，傳統製法是以麻油及酒類浸泡或加熱萃取，因此溫度、時間等萃取條件將是影響成分變化及產品製程的重要因素。本計畫將以金門龍鳳酒、十全大補藥酒、萬應膏、太乙膏、綠云膏及如意金黃散常用之方劑為對象，開發藥酒及藥膠布之 HPLC 分析方法。金門龍鳳酒以五味子（gomisin A，schizandrin）、山萸肉（loganin）、肉桂（cinnamic acid，cinnamaldehyde）、當歸（scopoletin，ferulic acid，等七種以各種指標成分，開發金門龍鳳酒多成分同時分析之 HPLC 分析方法。萬應膏以川烏、草烏（aconitine）、肉桂（cinnamic acid，cinnamaldehyde）、白芷、羌活（isoimperatorin）、當歸（ferulic acid）、赤芍藥（paeoniflorin）、甘草（glycyrrhizin）、元參（harpagoside）、大黃（emodin，sennoside A，sennoside B）等十一種成分為指標成分，開發萬應膏多成分同時分析之 HPLC 分析方法。太乙膏以肉桂（cinnamic acid，cinnamaldehyde）、元參（harpagoside）、白芷（isoimperatorin）、赤芍藥（paeoniflorin）、當歸（ferulic acid）、大黃（emodin，sennoside A，sennoside B）等九種成分為指標成分，開發太乙膏多成分同時分析之 HPLC 分析方法。十全大補藥酒以當歸、川芎（ferulic acid），白芍（paeoniflorin），甘草（glycyrrhizin），肉桂（cinnamic acid，cinnamaldehyde），黃耆（calycosin）等六種以各種指標成分，開發十全大補藥酒多成分同時分析之 HPLC 分析方法。綠云膏以黃連（berberine，coptisine），黃柏（berberine），大黃（emodin，sennoside A），元參（harpagoside），黃芩（baicalin，baicalein）

等七種成分為指標成分，開發綠云膏多成分同時分析之 HPLC 分析方法。如意金黃散以黃柏 (berberine)、大黃 (emodin, sennoside A, sennoside B)、薑黃 (curcumin)、白芷 (imperatorin)、厚朴 (magnolol)、陳皮 (hesperidin) 及甘草 (glycyrrhizin) 等九種成分為指標成分，開發如意金黃散多成分同時分析之 HPLC 分析方法。這六種方劑之 HPLC 分析方法經確效試驗之驗證，得到安定且值得信賴之定量法，建立檢驗標準，達到品質管制之目的，以確保製劑之正確性及有效性。

關鍵詞：藥膠布、藥酒、太乙膏、萬應膏、金門龍鳳酒、十全大補藥酒、綠云膏、如意金黃散、HPLC

CCMP90-RD-009、CCMP91-RD-112、CCMP92-RD-109

Studies on the component and the effect of release of marker component in plaster formulas and tonic wine formulas. (1-3~3-3) -Studies on the component analysis and quality control in patch formulas preparation of Chinese herb medicine

Lay, Horng-Liang

National Pingtung University of Science & Technology

ABSTRACT

Patch is common dosage form in the preparation of Chinese herb medicine. Since sesame oil is used in extraction as in traditional preparation methods, conditions such as temperature and duration adopted in extraction will affect the components and appearance of the products.

In this project, we selected six model drugs, King-Mon-Long-Fong-Jyo, Wan-Yin-Gau, Tai-Yi-Gau, Shyr-Chyuan-Dah-Buu-Yaw-Jyo, Rui-Yun-Gau, and Ru-Yi-Jin-Huang-San, either patch or tonic wine form to develop analytic HPLC techniques. In King-Mon-Long-Fong-Jyo, gomisins A, schizandrin in *Schizandrae Fructus*, loganin in *Corni Fructus*, cinnamic acid, cinnamaldehyde in *Cinnamomi Cortex*, scopoletin, ferulic acid in *Angelicae Sinensis Radix* were used as indicator components to analyze multi-components simultaneously by HPLC. In Wan-Yin-Gau, the indicator components were aconitine in *Aconiti Radix* and *Aconiti Kusnezoffii Radix*, cinnamic acid, cinnamaldehyde in *Cinnamomi Cortex*, isoimperatorin in *Angelicae Dahuricae Radix* and *Notopterygii Rhizoma*, ferulic

acid in *Angelicae Sinensis Radix*, paeoniflorin in *Paeoniae Radix Rubra*, glycyrrhizin in *Glycyrrhizae Radix*, harpagoside in *Scrophulariae Radix*, emodin, sennoside A, sennoside B in *Rhei Rhizoma*. In *Tai-Yi-Gau*, cinnamic acid, cinnamaldehyde in *Cinnamomi Cortex*, harpagoside in *Scrophulariae Radix*, isoimperatorin in *Angelicae Dahuricae Radix*, paeoniflorin in *Paeoniae Radix Rubra*, ferulic acid in *Angelicae Sinensis Radix*, emodin, sennoside A, sennoside B in *Rhei Rhizoma* were employed. In *Shyr-Chyuan-Dah-Buu-Yaw-Jyo*, ferulic acid in *Angelicae Sinensis Radix* and *Cnidii Rhizoma*, paeoniflorin in *Paeoniae Radix*, glycyrrhizin in *Glycyrrhizae Radix*, cinnamic acid, cinnamaldehyde in *Cinnamomi Cortex*, calycosin in *Astragali Radix*. In *Rui-Yun-Gau*, the indicator components were berberine, coptisine in *Coptidis Rhizoma*, berberine in *Phellodendri Cortex*, emodin, sennoside A in *Rhei Rhizoma*, harpagoside in *Scrophulariae Radix*, baicalin, baicalein in *Scutellariae Radix* Regarding *Ru-Yi-Jin-Huang-San*, berberine in *Phellodendri Cortex*, emodin, sennoside A, sennoside B in *Rhei Rhizoma*, curcumin in *Curcumae Rhizoma*, imperatorin in *Angelicae Dahuricae Radix*, magnolol in *Magnoliae Cortex*, hesperidin in *Citri Leiocarpae Exocarpium*, and glycyrrhizin in *Glycyrrhizae Radix* were used as indicator components to analyze multi-components simultaneously by HPLC.

The analytic HPLC methods described above have been confirmed to be reliable for quantification. These methods can also be used to establish standards for quality control to ensure the accuracy and efficiency in Chinese medicine preparation.

Keywords: Patch, wine, *Tai-Yi-Gau*, *Wan-Yin-Gau*, *King-Mon-Long-Fong-Jyo*, *Rui-Yun-Gau*, *Shyr-Chyuan-Dah-Buu-Yaw-Jyo*, *Ru-Yi-Jin-Huang-San*, HPLC.

壹、前言

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。在「研發中草藥的步驟與展望」第五項「進軍國際市場，開拓商機」中更明確指出健康食品、特殊療效的方藥、中藥化妝品、藥酒及貼布等均為值得發展之品項，其中貼布希望能擴大產能，以爭取貼布王國的雅號。因此，貼布產品將是未來發展之重點。產品之優劣取決於品質與有效性，在「研發中草藥的步驟與展望」第一項亦指出「提昇與管控中草藥的品質」，要推動中草藥，最先決條件要提昇與管控中草藥的品質，一旦中草藥品質參差不齊，就會影響到療效。行政院衛生署 公告“自民國九十年元月一日起，申請葛根湯、小青龍湯、加味逍遙散、桂枝湯、甘露飲、麻杏甘石湯、補中益氣湯、六味地黃丸、黃連解毒湯、獨活寄生湯等十個方濃縮製劑以及自民國九十二年二月一日起再公告增加知柏地黃丸、龍膽瀉肝湯、辛夷清肺湯、血府逐瘀湯、杞菊地黃丸、消風散、清心蓮子飲、四逆散、定喘湯、柴葛解肌湯等共二十個方濃縮製劑之國產及輸入新案藥品查驗登記及藥品許可證有效期間展延時，應依附件「中藥濃縮製劑制訂指標成分定量法及規格注意事項」檢附相關資料辦理，未能檢附該項資料者，新案無法獲准查驗登記，藥品許可證有效期限不得展延”。“中藥濃縮製劑制訂指標成分定量法及規格注意事項」中，規定每一處方中應選擇來自不同原料藥之二種以上指標成分予以定量，目前雖只公告葛根湯等二十個方劑須作指標成分之定量，但這是將來中草藥發展之必然趨勢。

藥膠布及藥酒為中醫藥常用的製劑劑型，傳統製法是以麻油及酒類浸泡或加熱萃取，因此溫度、時間等萃取條件將是影響成分變化及產品製程的重要因素。90~92 年度計畫以金門龍鳳酒、太乙膏、萬應膏、綠云膏、十全大補藥酒及如意金黃散等六種常用之方劑為對象，開發藥膠布及藥酒之各種指標成分 HPLC 分析方法，並經確效試驗之驗證，得到安定且值得信賴之定量法，建立檢驗標準，達到品質管制之目的，以確保製劑之正確性及有效性。

貳、材料與方法

一、材料

(一) 九十年度計畫

1. 方劑

(1) 藥酒：金門龍鳳酒

(2) 藥膠布：太乙膏、萬應膏

在外用藥膠布製劑中選擇常用的太乙膏、萬應膏，藥酒中選擇金門龍鳳酒當模式藥 (model drug)，進行用 HPLC 分析方法之開發。

2. 處方依據

(1) 金門龍鳳酒：衛生署公告中藥酒劑基準方

(2) 太乙膏：外科正宗¹⁾

(3) 萬應膏：瘡瘍經驗全書¹⁾

3. 處方內容及藥材收集

(1) 處方內容

金門龍鳳酒：五味子 6.3 mg、山萸肉 12.5 mg、巴戟天 6.3 mg、肉蓯蓉 12.5 mg、肉桂 2.5 mg、當歸 3.8 mg、原料酒加至 1.0 mL。

太乙膏：肉桂、白芷、當歸、元參、赤芍藥、生地黃、大黃、土木鱉各二兩，阿魏三錢、輕粉四錢、柳枝、槐枝各一百段，血餘一兩、東丹四十兩，乳香五錢，沒藥三錢，麻油五斤。

萬應膏：川烏、草烏、生地黃、白朮、白芨、象皮、肉桂、白芷、當歸、赤芍藥、羌活、苦參、木鱉子、穿山甲、烏藥、甘草、獨活、元參、大黃各 15g。

(2) 藥材收集

上述方劑中將去除保育類 (象皮，穿山甲)、柳枝、槐枝、輕粉、東丹、血餘 (頭髮) 等藥材，其餘藥材配合整合型計畫統一採購。

4. 指標成分及內部標準物質

(1) 金門龍鳳酒

五味子：gomisin A、schizandrin 自行單離純化。

山萸肉：loganin 自行單離純化。

肉桂⁽²⁻³⁾：cinnamic acid，cinnamaldehyde 購自 Fluka。

當歸⁽⁴⁻¹⁴⁾：scopoletin，ferulic acid 購自 SIGMA。

內部標準物質：nobiletin (40 μ g/mL)。

(2) 萬應膏

川烏、草烏⁽¹⁵⁻¹⁶⁾：aconitine 購自 SIGMA

肉桂⁽²⁻³⁾：cinnamic acid，cinnamaldehyde 購自 Fluka

白芷、羌活⁽¹⁷⁾：isoimperatorin 成功大學吳天賞教授提供。

當歸⁽⁴⁻¹⁴⁾：ferulic acid 自行單離純化

赤芍藥⁽¹⁸⁻¹⁹⁾：paeoniflorin 自行單離純化

甘草⁽²⁰⁻²³⁾：glycyrrhizin 購自 米山藥品

元參⁽²⁴⁻²⁵⁾：harpagoside 購自 EXTRASYNTHESE

大黃⁽²⁶⁻²⁷⁾：emodin 購自 SIGMA，sennoside A、sennoside B 購自
EXTRASYNTHESE。

內部標準物質：propylparaben (60 μ g/mL)。

(3) 太乙膏

肉桂⁽²⁻³⁾：cinnamic acid，cinnamaldehyde 購自 Fluka。

白芷⁽¹⁷⁾：isoimperatorin 成功大學吳天賞教授提供。

當歸⁽⁴⁻¹⁴⁾、阿魏⁽²⁸⁻²⁹⁾：ferulic acid 購自 SIGMA。

元參⁽²⁴⁻²⁵⁾：harpagoside 購自 EXTRASYNTHESE。

赤芍藥⁽¹⁸⁻¹⁹⁾：paeoniflorin 自行單離純化。

大黃⁽²⁶⁻²⁷⁾：emodin 購自 SIGMA，sennoside A、sennoside B 購自
EXTRASYNTHESE。

內部標準物質：propylparaben (60 μ g/mL)。

5. 試藥及溶媒

95% Ethanol (公賣局)、超純水 (18M Ω , Millipore)、Acetonitrile (LC 級)、Methanol (LC 級)、Phosphoric acid (特級)、0.45 μ m 濾膜 (Millipore)。

(二) 九十一年度計畫

1. 方劑

(1) 藥酒：十全大補藥酒

(2) 藥膠布：綠云膏

在外用藥膠布製劑中選擇常用的綠云膏，藥酒中選擇十全大補藥酒當模式藥 (model drug)，進行用 HPLC 分析方法之開發。

2. 處方依據

(1) 十全大補藥酒：衛生署公告中藥酒劑基準方

(2) 綠云膏：醫學正傳⁽³⁰⁾

3. 處方內容及藥材收集

(1) 處方內容

十全大補藥酒：當歸 37.5 mg、川芎 15.0 mg、白芍 22.5 mg、熟地黃 30.0 mg、黨參 20.0 mg、茯苓 30.0 mg、白朮 30.0 mg、甘草 10.0 mg、肉桂 12.5 mg、黃耆 22.5 mg、原料酒加至 1.0 mL。

綠云膏：黃連、大黃、元參、黃柏、木鱉子各一錢。細切，用香油一兩同煎焦色，去藥渣，入松香五兩再煎成膏。

(2) 藥材收集

上述各方劑之藥材，配合整合型計畫統一採購。

4. 指標成分及內部標準物質

(1) 十全大補藥酒：

當歸、川芎⁽⁴⁻¹⁴⁾：ferulic acid 自行單離純化。

白芍⁽¹⁸⁻¹⁹⁾：paeoniflorin 自行單離純化。

甘草⁽²⁰⁻²³⁾：glycyrrhizin 購自米山藥品。

肉桂⁽²⁻³⁾：cinnamic acid, cinnamaldehyde 購自 Fluka。

黃耆⁽³¹⁻³²⁾：calycosin 自行單離純化。

內部標準物質：methylparaben (200 μ g/mL)。

(2) 綠云膏：

黃連、黃柏⁽³³⁻³⁶⁾：berberine, coptisine 自行單離純化。

大黃⁽²⁶⁻²⁷⁾：emodin, sennoside A 購自 Extrasynthese。

元參⁽²⁴⁻²⁵⁾：harpagoside 購自 Extrasynthese。

黃芩⁽³⁷⁾：baicalin, baicalein 自行單離純化。

內部標準物質：thymol (600 µg/mL)。

5. 試藥及溶媒

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

(三) 九十二年度計畫

1. 方劑

在外用藥膠布製劑中選擇常用的如意金黃散當模式藥 (model drug)，進行用 HPLC 分析方法之開發。

2. 處方依據

如意金黃散：衛生署公告中藥基準方

3. 如意金黃散處方內容及藥材收集

(1) 處方內容

枯樓根 25 g、黃柏 12.5 g、大黃 12.5 g、薑黃 12.5 g、白芷 12.5 g、厚朴 5 g、陳皮 5 g、甘草 5 g、蒼朮 5 g、生天南星 5 g。

(2) 藥材收集

上述各方劑之藥材，配合整合型計畫統一採購。

4. 指標成分及內部標準物質

(1) 指標成分：

黃柏⁽³³⁻³⁶⁾：berberine 自行單離純化。

大黃⁽²⁶⁻²⁷⁾：emodin, sennoside A, sennoside B 購自 Extrasynthese。

薑黃⁽³⁸⁻³⁹⁾：curcumin 購自 Sigma。

白芷⁽¹⁷⁾：imperatorin 自行單離純化。

厚朴⁽⁴⁰⁻⁴²⁾：magnolol 自行單離純化。

陳皮⁽⁴³⁻⁴⁶⁾：hesperidin 自行單離純化。

甘草⁽²⁰⁻²³⁾：glycyrrhizin 購自米山藥品。

(2) 內部標準物質：

paeonol (216 µg/mL) 自行單離純化。

5. 試藥及溶媒

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

二、檢品之萃取及製備

(一) 九十年度計畫

1. 方劑萃取液之製備

(1) 金門龍鳳酒

a. 不同體積 (倍數) 之米酒 (20°) 浸泡萃取

五味子 6.3 g、山萸肉 12.5 g、巴戟天 6.3 g、肉蓯蓉 12.5 g、肉桂 2.5 g、當歸 3.8 g，共計 43.9 g。以市售米酒 (20°) 分別添加藥材總量之 2 倍 (87.8 mL)、4 倍 (175.6 mL)、8 倍 (351.2 mL)、12 倍 (526.8 mL)、16 倍 (702.4 mL)、20 倍 (878.0 mL) 等不同體積之米酒，在室溫下靜置 3 星期進行萃取，經過濾並定容至一定量後，探討其指標成分含量之差異性。

b. 不同溫度萃取條件

上述金門龍鳳酒藥材量添加 1.0 L 市售米酒 (20°) 分別在室溫下靜置 3 星期、45°C 迴流萃取 24 小時、60°C 迴流萃取 12 小時、煮沸迴流萃取 3 小時等不同萃取條件，經過濾並定容至一定量後，探討其指標成分含量之差異性。

c. 嘉義大學藥酒製品

| 溫度 (°C) | 天數 | 酒精含量 (%) | 瓶數 | 容量 (mL) |
|---------|----|----------|----|---------|
| 30 | 15 | 70 | 10 | 50 |
| 30 | 30 | 30 | 10 | 50 |
| 30 | 30 | 50 | 5 | 50 |
| 30 | 30 | 70 | 5 | 50 |
| 30 | 30 | 90 | 5 | 50 |

| | | | | |
|----|----|----|----|----|
| 30 | 60 | 30 | 5 | 50 |
| 30 | 60 | 50 | 5 | 50 |
| 30 | 60 | 70 | 5 | 50 |
| 30 | 60 | 90 | 5 | 50 |
| 30 | 90 | 30 | 5 | 50 |
| 30 | 90 | 50 | 5 | 50 |
| 30 | 90 | 70 | 5 | 50 |
| 30 | 90 | 90 | 5 | 50 |
| 40 | 15 | 70 | 10 | 50 |
| 40 | 30 | 70 | 10 | 50 |

以上是由嘉義大學分四次提供金門龍鳳酒製品為分析之樣品。

(2) 萬應膏：原方劑中去除象皮、穿山甲等藥材，其餘藥材量各為川烏、草烏、生地黃、白蘞、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、木鱉子各 15 g 共 255 g，進行下列處理：

- a. 麻油萃取：將上述藥材加麻油 1,000 mL 浸泡 24 小時，以 150°C 加熱萃取 3 小時後，用紗布過濾並用麻油定量至 1,000 mL，即為萬應膏麻油萃取液。
- b. 乙醇萃取：將上述藥材加乙醇 1,500 mL 加熱迴流萃取 3 小時後，用紗布過濾並用乙醇定量至 1,500 mL，即為萬應膏乙醇萃取液。
- c. 50%乙醇萃取：將上述藥材加 50%乙醇 1,500 mL 加熱迴流萃取 3 小時後，用紗布過濾並用 50%乙醇定量至 1,500 mL，即為萬應膏 50%乙醇萃取液。
- d. 水萃取：將上述藥材加水 1,500 mL 加熱迴流萃取 3 小時後，用紗布過濾並用水定量至 1,500 mL，即為萬應膏水萃取液。

(3) 太乙膏：稱取原方劑之 1/5 量，並去除輕粉、血餘、東丹等藥材，其餘藥材量各為肉桂、白芷、當歸、元參、赤芍藥、生地黃、大黃、土木鱉各 15 g、阿魏 2.25 g、乳香 3.75 g，沒藥 2.25 g 共 128.25 g，進行下列處理：

- a. 麻油萃取：將上述藥材加麻油 600 mL 浸泡 24 小時，以 150°C 加熱萃取 3 小時後，用紗布過濾並用麻油定量至 600 mL，即為太乙膏麻油萃取液。
- b. 乙醇萃取：將上述藥材加乙醇 1,000 mL 加熱迴流萃取 3 小時後，用紗布過濾並用乙醇定量至 1,000 mL，即為太乙膏乙醇萃取液。
- c. 50%乙醇萃取：將上述藥材加 50%乙醇 1,000 mL 加熱迴流萃取 3 小時後，用紗布過濾並用 50%乙醇定量至

1,000 mL，即為太乙膏 50%乙醇萃取液。

d.水萃取：將上述藥材加水 1,000 mL 加熱迴流萃取 3 小時後，用紗布過濾並用水定量至 1,000 mL，即為太乙膏水萃取液。

2. 檢品製備

(1) 金門龍鳳酒

a. 不同體積及不同溫度之萃取條件

取上述製備之各種金門龍鳳酒萃取液，經過濾減壓濃縮後，以 70% methanol 定容至 50 mL 並添加適量之內部標準物質後，經 0.45 μ m 濾膜過濾後成為 HPLC 定量分析對象。

b. 嘉義大學藥酒製品

由嘉義大學提供之 15 種金門龍鳳酒製品，各取 30 mL 經減壓濃縮後，以 70% methanol 定容至 10 mL 並添加適量之內部標準物質後，經 0.45 μ m 濾膜過濾後成為 HPLC 定量分析之對象。

(2) 萬應膏：

a. 麻油萃取：取上述製備萬應膏麻油萃取液 10 mL，加 n-hexane 250 mL 及 methanol 250 mL 進行分配層析並取 methanol 層，再將 methanol 層減壓濃縮乾後，以 70% methanol 定容至 10 mL 並添加適量之內部標準物質後，經 0.45 μ m 濾膜過濾後成為 HPLC 定量分析之對象。

b. 乙醇萃取：將上述製備萬應膏乙醇萃取液經減壓濃縮後，以 70% methanol 定容至 200 mL 並添加適量之內部標準物質後，經 0.45 μ m 濾膜過濾後成為 HPLC 定量分析之對象。

c. 50%乙醇萃取：將上述製備萬應膏 50%乙醇萃取液經減壓濃縮後，以 70% methanol 定容至 500 mL 並添加適量之內部標準物質後，經 0.45 μ m 濾膜過濾後成為 HPLC 定量分析之對象。

d. 水萃取：將上述製備萬應膏水萃取液經減壓濃縮後，以 70% methanol 定容至 400 mL 並添加適量之內部標準物質後，經 0.45 μ m 濾膜過濾後成為 HPLC 定量分析之對象。

(3) 太乙膏

a. 麻油萃取：取上述製備太乙膏麻油萃取液 10 mL，加 n-hexane 250 mL 及 methanol 250 mL 進行分配層析並取 methanol 層，再將 methanol 層減壓濃縮乾後，以

70% methanol 定容至 10 mL 並添加適量之內部標準物質後，經 0.45 μ m 濾膜過濾後成為 HPLC 定量分析之對象。

b. 乙醇萃取：將上述製備太乙膏乙醇萃取液經減壓濃縮後，以 70% methanol 定容至 100 mL 並添加適量之內部標準物質後，經 0.45 μ m 濾膜過濾後成為 HPLC 定量分析之對象。

c. 50% 乙醇萃取：將上述製備太乙膏 50% 乙醇萃取液經減壓濃縮後，以 70% methanol 定容至 250 mL 並添加適量之內部標準物質後，經 0.45 μ m 濾膜過濾後成為 HPLC 定量分析之對象。

d. 水萃取：將上述製備太乙膏水萃取液經減壓濃縮後，以 70% methanol 定容至 200 mL 並添加適量之內部標準物質後，經 0.45 μ m 濾膜過濾後成為 HPLC 定量分析之對象。

(二) 九十一年度計畫

1. 方劑萃取液之製備

(1) 十全大補藥酒

a. 熱提法

當歸 37.5 g、川芎 15.0 g、白芍 22.5 g、熟地黃 30.0 g、黨參 20.0 g、茯苓 30.0 g、白朮 30.0 g、甘草 10.0 g、肉桂 12.5 g、黃耆 22.5 g、以公賣局販售之米酒加至 1.0 L，置迴流萃取裝置中加熱萃取，第一次用總酒量 50 %，萃取 40 min，第二次用 30 %，第三次用 20 %，各萃取 30 min，過濾後合併萃取液，即為十全大補藥酒之萃取液。

b. 嘉義大學藥酒製品

由嘉義大學所提供的十全大補藥酒製品為分析之樣品，其樣品內容分述如下

嘉義大學十全大補藥酒製品

| 溫度 (°C) | 天數 | 酒精含量 (%) | 瓶數 | 容量 (mL) |
|---------|----|----------|----|---------|
| 30 | 30 | 50 | 3 | 50 |
| 30 | 30 | 70 | 3 | 50 |
| 30 | 60 | 50 | 3 | 50 |
| 30 | 60 | 70 | 3 | 50 |
| 30 | 60 | 50 | 3 | 50 |

| | | | | |
|----|----|----|---|----|
| 30 | 90 | 70 | 3 | 50 |
|----|----|----|---|----|

(2) 綠云膏

稱取黃連、大黃、元參、黃柏及木鱉子各 10 g 共 50 g，進行下列處理：

- a. 麻油萃取：將上述藥材加麻油 300 mL 浸泡 24 小時，以 150°C 加熱萃取 3 小時後，用紗布過濾並用麻油定量至 300 mL，即為綠云膏麻油萃取液。
- b. 乙醇萃取：將上述藥材加乙醇 300 mL 加熱迴流萃取 3 小時後，用濾紙過濾並用乙醇定量至 300 mL，即為綠云膏乙醇萃取液。
- c. 50%乙醇萃取：將上述藥材加 50%乙醇 300 mL 加熱迴流萃取 3 小時後，用濾紙過濾並用 50%乙醇定量至 300 mL，即為綠云膏 50%乙醇萃取液。
- d. 水萃取：將上述藥材加水 300 mL 加熱迴流萃取 3 小時後，用濾紙過濾並用水定量至 300 mL，即為綠云膏水萃取液。
- e. 高雄醫學大學藥膠布製品

由高雄醫學大學所提供的包括綠云膏水性及油性藥膠布製品為分析之樣品。

2. 檢品製備

(1) 十全大補藥酒

a. 熱提法

取上述製備十全大補藥酒之萃取液經減壓濃縮後，以定量瓶定容至 50 mL 並添加一定濃度之內部標準物質後，經 0.45 μ m 過濾膜過濾成為 HPLC 定量分析之對象。

b. 嘉義大學藥酒製品

由嘉義大學提供十全大補藥酒製品各取 30 mL 經減壓濃縮後，以定量瓶定容至 10 mL 並添加一定濃度之內部標準物質後，經 0.45 μ m 過濾膜過濾成為 HPLC 定量分析之對象。

(2) 綠云膏

- a. 麻油萃取：取上述製備綠云膏麻油萃取液 10 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 過濾膜過濾成為 HPLC 定量分析之對象。

b.乙醇萃取：將上述製備綠云膏乙醇萃取液經減壓濃縮後，以定量瓶定容至 50 mL 並添加一定濃度之內部標準物質後，經 0.45 μm 過濾膜過濾成為 HPLC 定量分析之對象。

c.50%乙醇萃取：將上述製備綠云膏 50%乙醇萃取液經減壓濃縮後，以定量瓶定容至 50 mL 並添加一定濃度之內部標準物質後，經 0.45 μm 過濾膜過濾成為 HPLC 定量分析之對象。

d.水萃取：將上述製備綠云膏水萃取液經減壓濃縮後，以定量瓶定容至 50mL 並添加一定濃度之內部標準物質後，經 0.45 μm 過濾膜過濾成為 HPLC 定量分析之對象。

e.高雄醫學大學藥膠布製品

(a) 綠云膏油性藥膠布製品

由高雄醫學大學提供綠云膏油性藥膠布製品，添加單片藥膠布重量之 10 倍甲醇加以迴流萃取，經過濾、濃縮後，以定量瓶定容至 10 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 μm 過濾膜過濾成為 HPLC 定量分析之對象。

(b) 綠云膏水性藥膠布製品

由高雄醫學大學提供綠云膏水性藥膠布製品，添加單片藥膠布重量之 10 倍甲醇加以迴流萃取，經過濾、濃縮後，以定量瓶定容至 25 mL 並添加一定濃度之內部標準物質後，經 0.45 μm 過濾膜過濾成為 HPLC 定量分析之對象。

(三) 九十二年度計畫

1.方劑萃取液之製備

稱取如意金黃散之組成藥材枳椇根 25 g、黃柏 12.5 g、大黃 12.5 g、薑黃 12.5 g、白芷 12.5 g、厚朴 5 g、陳皮 5 g、甘草 5 g、蒼朮 5 g、生天南星 5 g，進行下列處理：

- (1) 麻油萃取：將上述藥材加麻油 1000 mL 浸泡 24 小時，以 150℃ 加熱萃取 3 小時後，用紗布過濾並用麻油定量至 1000 mL，即為如意金黃散麻油萃取液。
- (2) 乙醇萃取：將上述藥材加乙醇 1000 mL 加熱迴流萃取 24 小時後，用紗布過濾並用乙醇定量至 1000 mL，即為如意金黃散乙醇萃取液。
- (3) 50%乙醇萃取：將上述藥材加 50%乙醇 1000 mL 加熱迴流萃取 24 小時後，用紗布過濾並用 50%乙醇定量至 1000 mL，即為如意金黃散 50%乙醇萃取液。
- (4) 水萃取：將上述藥材加水 1000 mL 加熱迴流萃取 24 小時後，用紗布過濾並用水定量至 1000 mL，即為如意金黃散水萃取液。
- (5) 高雄醫學大學藥膠布製品

由高雄醫學大學提供如意金黃散藥膠布製品為分析之樣品。

2. 檢品製備

- (1) 麻油萃取：取上述製備如意金黃散麻油萃取液 100 mL，加 n-hexane 及 methanol 各 500 mL 進行分配層析並取 methanol 層，再將 methanol 層減壓濃縮乾後，定容至 50 mL 並添加一定濃度之內部標準物質後，經 0.45 μ m 過濾膜過濾成為 HPLC 定量分析之檢品。
- (2) 乙醇萃取：將上述製備如意金黃散乙醇萃取液經減壓濃縮後，以定量瓶定容至 50 mL 並添加一定濃度之內部標準物質後，經 0.45 μ m 過濾膜過濾成為 HPLC 定量分析之檢品。
- (3) 50%乙醇萃取：將上述製備如意金黃散 50%乙醇萃取液經減壓濃縮後，以定量瓶定容至 50 mL 並添加一定濃度之內部標準物質後，經 0.45 μ m 過濾膜過濾成為 HPLC 定量分析之檢品。
- (4) 水萃取：將上述製備如意金黃散水萃取液經減壓濃縮後，以定量瓶定容至 50 mL 並添加一定濃度之內部標準物質後，經 0.45 μ m 過濾膜過濾成為 HPLC 定量分析之檢品。
- (5) 高雄醫學大學藥膠布製品

由高雄醫學大學提供如意金黃散藥膠布製品，添加單片藥膠布重量之 10 倍乙醇加以迴流萃取，經過濾、濃縮後，以定量瓶定容至 10 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 過濾膜過濾成為 HPLC 定量分析之檢品。

三、分析方法之建立

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。

四、Calibration curve 之建立 (21-22)

(一) 九十年度

1. 金門龍鳳酒

精確量取各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。loganin 之濃度依序為 300.0、150.0、75.0、37.5 及 18.75 μ g/mL；scopoletin 之濃度依序為 50.0、25.0、12.5、6.25 及 3.125 μ g/mL；ferulic acid 之濃度依序為 20.0、10.0、5.0、2.5

及 1.25 $\mu\text{g/mL}$ ；cinnamic acid 之濃度依序為 40.0、20.0、10.0、5.0 及 2.5 $\mu\text{g/mL}$ ；cinnamaldehyde 之濃度依序為 72.0、36.0、18.0、9.0 及 4.5 $\mu\text{g/mL}$ ；schizandrin 之濃度依序為 200.0、100.0、50.0、25.0 及 12.5 $\mu\text{g/mL}$ ；gomisin A 之濃度依序為 80.0、40.0、20.0、10.0 及 5.0 $\mu\text{g/mL}$ 。

2. 萬應膏

精確量取各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。paeoniflorin 之濃度依序為 40.0、20.0、10.0、5.0 及 2.5 $\mu\text{g/mL}$ ；ferulic acid 之濃度依序為 96.0、48.0、24.0、12.0 及 6.0 $\mu\text{g/mL}$ ；sennoside B 之濃度依序為 600.0、300.0、150.0、75.5、37.75 及 18.75 $\mu\text{g/mL}$ ；sennoside A 之濃度依序為 50.0、25.0、12.5、6.25 及 3.125 $\mu\text{g/mL}$ ；aconitine 之濃度依序為 40.0、20.0、10.0、5.0 及 2.5 $\mu\text{g/mL}$ ；harpagoside 之濃度依序為 100.0、50.0、25.0、12.5 及 6.25 $\mu\text{g/mL}$ ；cinnamic acid 之濃度依序為 38.0、19.0、9.5、4.75 及 2.375 $\mu\text{g/mL}$ ；cinnamaldehyde 之濃度依序為 398.0、199.0、99.5.0、49.75 及 24.875 $\mu\text{g/mL}$ ；glycyrrhizin 之濃度依序為 88.0、44.0、22.0、11.0 及 5.5 $\mu\text{g/mL}$ ；emodin 之濃度依序為 40.0、20.0、10.0、5.0 及 2.5 $\mu\text{g/mL}$ ；isoimperatorin 之濃度依序為 24.0、12.0、6.0、3.0 及 1.5 $\mu\text{g/mL}$ 。

3. 太乙膏

精確量取各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。Paeoniflorin 之濃度依序為 40.0、20.0、10.0、5.0 及 2.5 $\mu\text{g/mL}$ ；ferulic acid 之濃度依序為 96.0、48.0、24.0、12.0 及 6.0 $\mu\text{g/mL}$ ；sennoside B 之濃度依序為 600.0、300.0、150.0、75.5、37.75 及 18.75 $\mu\text{g/mL}$ ；sennoside A 之濃度依序為 50.0、25.0、12.5、6.25 及 3.125 $\mu\text{g/mL}$ ；harpagoside 之濃度依序為 100.0、50.0、25.0、12.5 及 6.25 $\mu\text{g/mL}$ ；cinnamic acid 之濃度依序為 38.0、19.0、9.5、4.75 及 2.375 $\mu\text{g/mL}$ ；cinnamaldehyde 之濃度依序為 72.0、36.0、18.0、9.0 及 4.5 $\mu\text{g/mL}$ ；emodin 之濃度依序為 40.0、20.0、10.0、5.0 及 2.5 $\mu\text{g/mL}$ ；isoimperatorin 之濃度依序為 24.0、12.0、6.0、3.0 及 1.5 $\mu\text{g/mL}$ 。

(二) 九十一年度

1. 十全大補藥酒

精確量取各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溶液，paeoniflorin 依序為 128.0、64.0、32.0、16.0

及 8.0 µg/mL ; ferulic acid 為 108.0、54.0、27.0、13.5 及 6.75 µg/mL ; cinnamic acid 為 124.0、62.0、31.0、15.5 及 7.75 µg/mL ; cinnamaldehyde 為 1,000.0、500.0、250.0、125.0 及 62.5 µg/mL ; glycyrrhizin 為 2076.0、1038.0、519.0、259.5 及 129.75 µg/mL ; calycosin1 為 2.0、6.0、3.0、1.5 及 0.75 µg/mL。

2.綠云膏：

精確量取各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溶液 coptisine 依序為 80.0、40.0、20.0、10.0、5.0 及 2.5 µg/mL ; berberine 為 240.0、120.0、60.0、30.0、15.0 及 7.5 µg/mL ; sennoside A 為 120.0、60.0、30.0、15.0、7.5 及 3.75 µg/mL ; baicalin 為 350.0、175.0、87.5、43.75、21.88 及 10.94 µg/mL ; harpagoside 為 35.0、17.5、8.75、4.375、2.19 及 1.09 µg/mL ; baicalein 為 350.0、175.0、87.5、43.75、21.88 及 10.94 µg/mL ; emodin 為 40.0、20.0、10.0、5.0、2.5 及 1.25 µg/mL。

(三) 九十二年度

精確量取如意金黃散之各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溶液，berberine 依序為 6.25、12.5.0、25.0、50.0、100.0 及 200.0 µg/mL ; sennoside B 為 0.625、1.25.0、2.5.0、5.0、10.0 及 20.0 µg/mL ; hesperidin 為 8.75、17.5、35.0、70.0、140.0 及 280.0 µg/mL ; sennoside A 為 5.0、10.0、20.0、40.0、80.0 及 160.0 µg/mL ; glycyrrhizin 為 7.5、15.0、30.0、60.0、120.0 及 240.0 µg/mL ; curcumin 為 11.25、22.5、45.0、90.0、180.0 及 360.0 µg/mL ; emodin 為 1.875、3.75、7.5、15.0、30.0 及 60.0 µg/mL ; imperatorin 為 1.875、3.75、7.5、15.0、30.0 及 60.0 µg/mL ; magnolol 為 1.25、2.5、5.0、10.0、20.0 及 40.0 µg/mL。

- (四) 上述各年度之各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)。

五、分析方法之確效試驗 (validation) (47-48)

(一) 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，同一濃度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。

(二) 回收率 (recovery)

1. 取標準萃取液 1.5 mL，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、九十年度

(一) 金門龍鳳酒

1. 以五味子 (gomisin A, schizandrin)、山萸肉 (loganin)、肉桂 (cinnamic acid, cinnamaldehyde)、當歸 (scopoletin, ferulic acid) 等七種成分為指標成分，開發金門龍鳳酒多成分同時分析之 HPLC 分析方法。
2. 所開發之 HPLC 分析方法經 intra-day, inter-day, recovery 等確效試驗，其準確度及再現性良好。
3. 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係數。
4. 完成不同溫度萃取條件、不同萃取溶媒倍數（體積）及嘉義大學所製作之金門龍鳳酒等檢品之定量分析。

(二) 萬應膏

1. 以川烏、草烏 (aconitine)、肉桂 (cinnamic acid, cinnamaldehyde)、白芷、羌活 (isoimperatorin)、當歸 (ferulic acid)、赤芍藥

(paeoniflorin)、甘草(glycyrrhizin)、元參(harpagoside)、大黃(emodin, sennoside A, sennoside B)等十一種成分為指標成分，開發萬應膏多成分同時分析之 HPLC 分析方法。

- 2.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。
- 3.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。
- 4.完成麻油萃取、乙醇萃取、50%乙醇萃取、水萃取等不同溶媒之萃取條件及高雄醫學大學所製作之水性、油性萬應膏貼劑等檢品之定量分析。

(三) 太乙膏

- 1.以肉桂(cinnamic acid, cinnamaldehyde)、元參(harpagoside)、白芷(isoimperatorin)、赤芍藥(paeoniflorin)、當歸(ferulic acid)、大黃(emodin, sennoside A, sennoside B)等九種成分為指標成分，開發太乙膏多成分同時分析之 HPLC 分析方法。
- 2.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。
- 3.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。

二、九十一年度

(一) 十全大補藥酒：

- 1.以當歸、川芎(ferulic acid)、白芍(paeoniflorin)、甘草(glycyrrhizin)肉桂(cinnamic acid, cinnamaldehyde)、黃耆(calycosin)等七種成分為指標成分，開發十全大補藥酒多成分同時分析之 HPLC 分析方法。
- 2.所開發之 HPLC 分析方法經 intra-day, inter-day, recovery 等確效試驗，其準確度及再現性良好。
- 3.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。
- 4.完成嘉義大學所製作之十全大補藥酒等檢品之定量分析。

(二) 綠云膏

- 1.以黃連、黃柏(berberine, coptisine)、大黃(emodin, sennoside A)、元參(harpagoside)、黃芩(baicalin, baicalein)七種成分為指標成分，開發萬應膏多成分同時分析之 HPLC 分析方法。

- 2.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。
- 3.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。
- 4.完成麻油萃取、乙醇萃取、50%乙醇萃取、水萃取等不同溶媒之萃取條件及高雄醫學大學所製作之水性、油性綠云膏貼劑等檢品之定量分析。

三、九十二年度

- (一) 以黃柏 (berberine)、大黃 (emodin, sennoside A, sennoside B)、薑黃 (curcumin)、白芷 (imperatorin)、厚朴 (magnolol)、陳皮 (hesperidin) 及甘草 (glycyrrhizin) 等九種成分為指標成分，開發如意金黃散多成分同時分析之 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) 完成麻油萃取、乙醇萃取、50%乙醇萃取、水萃取等不同溶媒之萃取條件及高雄醫學大學所製作之水性、油性如意金黃散貼劑等檢品之定量分析。

肆、討論

一、九十年年度

(一) 金門龍鳳酒

1.分析條件

- (1) Column：Inertsil 5 ODS-2，4.6 I.D.×250mm.
- (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：1.0 mL/min.

(5) 檢出波長：UV250 nm.

2.HPLC 之分離

以 loganin、scopoletin、ferulic acid、cinnamic acid、cinnamaldehyde、schizandrin、gomisin A 等為指標成分，開發金門龍鳳酒之 HPLC 分析方法。由層析圖一～二所示，標準方各指標成分之滯留時間各為：loganin 為 18.09 分、scopoletin 為 27.72 分、ferulic acid 為 29.69 分、cinnamic acid 為 42.21 分、cinnamaldehyde 為 44.48 分、schizandrin 為 51.17 分、gomisin A 為 53.87 分、內部標準物質 nobiletin 為 49.77 分，並經標準方缺山萸肉、當歸、肉桂及五味子之確認，在此分離條件下目標之 8 個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。圖三～四各為 50% ethanol 萃取及嘉義大學金門龍鳳酒製品(30℃、60 天、50%)之層析圖，亦顯現良好分離效果，故本分析方法應可做為金門龍鳳酒製程及產品品質檢測之條件。

3.確效試驗

表二為 intra-day、inter-day 及 recovery 之確效試驗結果。各指標成分在低、中、高濃度之 intra-day 及 inter-day 檢測結果，inter-day 之 CV 值有大於 intra-day 之傾向，整體而言僅少數 2 個數據大於 5%外，其餘均小於 5%，再現性良好。recovery 檢測則在 $96.53 \pm 4.56 \sim 116.44 \pm 2.20$ 之間，具有良好的回收率。

4.檢量線之製作

(1) Loganin：在 300.0~18.75 μ g/mL 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0201x + 0.0267 \quad (r=1.0000, n=5)$$

(2) Scopoletin：在 50.0~3.125 μ g/mL 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0268x - 0.0058 \quad (r=0.9999, n=5)$$

(3) Ferulic acid：在 20.0~1.25 μ g/mL 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0527x - 0.0693 \quad (r=0.9944, n=5)$$

(4) Cinnamic acid：在 40.0~2.5 μ g/mL 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0464x + 0.0331 \quad (r=0.9996, n=5)$$

(5) Cinnamaldehyde：在 50.0~3.125 μ g/mL 濃度範圍標準曲線方程式為 $y = 0.0201x + 0.0212$ ($r=0.9998, n=5$)

(6) Schizandrin：在 200.0~12.5 $\mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0272x + 0.0909 \quad (r=0.9997, n=5)$$

(7) Gomisin A：在 80.0~5.0 $\mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0322x + 0.0337 \quad (r=0.9995, n=5)$$

以上各指標成分之檢量線均可得到良好的直線關係，並可求出各指標成分濃度及含量。

5. 定量結果

(1) 不同體積（倍數）之米酒（20°）浸泡萃取

根據表三之定量結果顯示 7 種指標成分均在 8 倍（351.2 mL）或 12 倍（526.8 mL）體積之米酒（20°）萃取下已達最高含量之趨勢。因此，金門龍鳳酒之萃取溶媒體積應為藥材量之 8 倍（351.2 mL）或 12 倍（526.8 mL）為最適當。

(2) 不同溫度萃取條件

根據表四之定量結果顯示 loganin、scopoletin、ferulic acid、cinnamic acid、cinnamaldehyde 等 5 種指標成分均隨萃取溫度越高含量有越高之傾向，以煮沸迴流萃取之含量最高。而 schizandrin、gomisin A 則隨萃取溫度越高含量有降低之趨勢。整體而言萃取溫度對成分之釋出是比較有利。

(3) 嘉義大學藥酒製品

表五為嘉義大學所製作之金門龍鳳酒製品定量結果，顯示萃取溫度間各成分含量並無顯著之差異性，應足以判斷 30°C 為適當之萃取溫度；浸泡萃取時間在 30~90 天之間各成分含量亦無顯著之差異性，浸泡 30 天應足以為適當之萃取時間；酒精含量在 30~90% 之間則呈現隨酒精含量越高各成分含量有稍提高之趨勢，大致上酒精含量為 50% 時足為適當之萃取溶媒。整體而言以 30°C 之萃取溫度，萃取 30 天，酒精含量為 50% 時應為金門龍鳳酒適當之萃取條件。

(二) 萬應膏

1. 分析條件

(1) Column：Inertsil 5 ODS-2，4.6 I.D.×250mm.

(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，沖提程式如表六。

(3) 注入量：20 μ L.

(4) 流速：1.0 mL/min.

(5) 檢出波長：UV250 nm.

2.HPLC 之分離

以 paeoniflorin、ferulic acid、sennoside B、sennoside A、aconitine、harpagoside、cinnamic acid、cinnamaldehyde、glycyrrhizin、emodin、isoimperatorin 等為指標成分，開發萬應膏之 HPLC 分析方法。由層析圖五～八所示，標準方各指標成分之滯留時間各為：paeoniflorin 為 16.29 分、ferulic acid 為 28.21 分、sennoside B 為 37.50 分、sennoside A 為 40.71 分、aconitine 為 45.79 分、harpagoside 為 54.19 分、cinnamic acid 為 55.63 分、cinnamaldehyde 為 58.49 分、glycyrrhizin 為 74.64 分、emodin 為 100.91 分、isoimperatorin 為 109.25 分，內部標準物質 propylparaben 為 69.75 分，並經標準方缺芍藥，缺當歸，缺大黃，缺川烏、草烏，缺玄參，缺肉桂，缺甘草及缺白芷、羌活之確認，在此分離條件下顯示十一個成分之波峰未受到方劑中其他成分干擾，且均有良好之分離效果。圖九～十四各為萬應膏麻油萃取、ethanol 萃取、50% ethanol 萃取、水萃取、油性貼布及水性貼布之 HPLC 層析圖，亦顯現良好分離效果，故本分析方法應可做為萬應膏製程及產品品質檢測之條件。

3.確效試驗

表七為萬應膏 intra-day、inter-day 及 recovery 之確效試驗結果。各指標成分在低、中、高濃度之 intra-day 及 inter-day 檢測結果，CV 值均小於 5%，再現性良好。recovery 檢測則在 $96.29 \pm 3.78 \sim 103.46 \pm 2.75$ 之間，具有良好的回收率。

4.檢量線之製作

(1) Paeoniflorin：在 40.0~2.5 μ g/mL 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0023x - 0.0002 \quad (r=0.9998, n=5)$$

(2) Ferulic acid：在 96.0~6.0 μ g/mL 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0293x - 0.0047 \quad (r=0.9998, n=5)$$

(3) Sennoside B：在 600.0~18.75 μ g/mL 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = .2.6663x + 0.0468 \quad (r=0.9994, n=5)$$

(4) Sennoside A：在 50.0~3.125 $\mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0057x + 0.0007 \quad (r=0.9998, n=5)$$

(5) Aconitine：在 40.0~2.5 $\mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0026x - 0.0018 \quad (r=0.9998, n=5)$$

(6) Harpagoside：在 100.0~6.25 $\mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0081x + 0.0028 \quad (r=0.9999, n=5)$$

(7) Cinnamic acid：在 38.0~2.375 $\mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0119x + 0.0035 \quad (r=0.9999, n=5)$$

(8) Cinnamaldehyde：在 398.0~24.875 $\mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0504x + 0.0537 \quad (r=0.9997, n=5)$$

(9) Glycyrrhizine：在 88.0~5.5 $\mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0504x + 0.0329 \quad (r=0.9995, n=5)$$

(10) Emodin：在 40.0~2.5 $\mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0144x + 0.0268 \quad (r=0.9992, n=5)$$

(11) Isoimperatorin：在 24.0~1.5 $\mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0053x + 0.0019 \quad (r=0.9999, n=5)$$

以上各指標成分之檢量線均可得到良好的直線關係，並可求出各指標成分濃度及含量。

5. 定量結果

表八為萬應膏四種不同溶媒萃取及高雄醫學大學製造之兩種貼布，其 11 種指標成分含量分析之結果，分述如下：

(1) 四種不同溶媒萃取之成分含量變化

a. Paeoniflorin 含量：ethanol > 水 > 50% ethanol > 麻油。

b. Ferulic acid 含量：ethanol > 50% ethanol > 水 > 麻油。

c. Sennoside B 含量：ethanol > 水 > 50% ethanol，麻油麻油未被檢測出來。

d. Sennoside A 含量：50% ethanol > 水 > ethanol > 麻油。

e. Aconitine 含量：ethanol > 50% ethanol > 水 > 麻油。

f. Harpagoside 含量：ethanol > 50% ethanol > 水 > 麻油。

g.Cinnamic acid 含量：50% ethanol> ethanol>水>麻油。

h.Cinnamaldehyde 含量：ethanol>50% ethanol，水及麻油未被檢測出來。

i.Glycyrrhizine 含量：ethanol>50% ethanol >水>麻油。

j.Emodin 含量：ethanol>50% ethanol >麻油>水。

k.Isoimperatorin 含量：ethanol>50% ethanol >水>麻油。

以上結果顯示萬應膏萃取之最佳溶媒為 ethanol，其次為 50% ethanol，水及麻油之萃取率並不理想。

(2) 高雄醫學大學製造兩種貼布之成分含量變化

a.水性貼布：在一片貼布中檢測出 Paeoniflorin 及 Sennoside A 兩種成分，其含量分別為 $0.53\text{mg} \pm 5.50\%$ ， $7.86\text{mg} \pm 3.59\%$ 。

b.油性貼布：在一片貼布中除 Aconitine、Harpagoside、Emodin 未被檢測出來外，其他成分之含量分別為 Paeoniflorin $4.12\text{mg} \pm 1.24\%$ 、Ferulic acid $0.19\text{mg} \pm 2.76\%$ 、Sennoside B $1.18\text{mg} \pm 1.41\%$ 、Sennoside A $0.02\text{mg} \pm 2.75\%$ 、Cinnamic acid $2.79\text{mg} \pm 0.79\%$ 、Cinnamaldehyde $0.80\text{mg} \pm 1.25\%$ 、Glycyrrhizine $5.03\text{mg} \pm 0.25\%$ 、Isoimperatorin $2.00\text{mg} \pm 4.08\%$ 。

(三) 太乙膏

1.分析條件

(1) Column：Inertsil 5 ODS-2，4.6 I.D.×250mm.

(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，沖提程式如表九。

(3) 注入量：20 μL .

(4) 流速：1.0 mL/min.

(5) 檢出波長：UV250 nm.

2.HPLC 之分離

以 paeoniflorin、ferulic acid、sennoside B、sennoside A、harpagoside、cinnamic acid、cinnamaldehyde、emodin、isoimperatorin 等為指標成分，開發太乙膏之 HPLC 分析方法。由層析圖十五～十七所示，標準方各指標成分之滯留時間各為：paeoniflorin 之滯留時間為 22.74 分、ferulic acid 為 29.12 分、sennoside B 為 31.45 分、sennoside A 為 33.47 分、harpagoside 為 39.12 分、cinnamic acid 為 41.74 分、cinnamaldehyde 為

43.96 分、emodin 為 57.51 分、isoimperatorin 為 59.57 分，內部標準物質 propylparaben 為 47.13 分，並經標準方缺芍藥，缺當歸，缺大黃，缺玄參，缺肉桂及缺白芷之確認，在此分離條件下顯示九個成分之波峰未受到方劑中其他成分干擾，且均有良好之分離效果。圖十八～二十一各為太乙膏麻油萃取、ethanol 萃取、50% ethanol 萃取及水萃取之 HPLC 層析圖，亦顯現良好分離效果，故本分析方法應可做為太乙膏製程及產品品質檢測之條件。

3. 確效試驗

表十為太乙膏 intra-day、inter-day 及 recovery 之確效試驗結果。各指標成分在低、中、高濃度之 intra-day 及 inter-day 檢測結果，CV 值均小於 5%，再現性良好。recovery 檢測則在 $95.96 \pm 4.28 \sim 107.23 \pm 4.42$ 之間，具有良好的回收率。

4. 檢量線之製作

(1) Paeoniflorin：在 40.0～2.5 $\mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0014x - 0.0000005 \quad (r=0.9995, n=5)$$

(2) Ferulic acid：在 96.0～6.0 $\mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0249x + 0.0082 \quad (r=0.9997, n=5)$$

(3) Sennoside B：在 600.0～18.75 $\mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0027x - 0.0011 \quad (r=0.9999, n=5)$$

(4) Sennoside A：在 50.0～3.125 $\mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0050x + 0.0007 \quad (r=0.9997, n=5)$$

(5) Harpagoside：在 100.0～6.25 $\mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0083x + 0.0084 \quad (r=0.9996, n=5)$$

(6) Cinnamic acid：在 38.0～2.375 $\mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0122x + 0.0132 \quad (r=0.9994, n=5)$$

(7) Cinnamaldehyde：在 398.0～24.875 $\mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0501x + 0.1046 \quad (r=0.9993, n=5)$$

(8) Emodin：在 40.0～2.5 $\mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0126x + 0.0488 \quad (r=0.9992, n=5)$$

(9) Isoimperatorin：在 24.0～1.5 $\mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0046x + 0.0173 \quad (r=0.9984, n=5)$$

以上各指標成分之檢量線均可得到良好的直線關係，並可求出各指標成分濃度及含量。

5. 定量結果

表十一為太乙膏四種不同溶媒萃取之 9 種指標成分含量分析之結果，分述如下：

- (1) Paeoniflorin 含量：50% ethanol>水> ethanol，麻油未被檢測出來。
- (2) Ferulic acid 含量：50% ethanol>水> ethanol >麻油。
- (3) Sennoside B 含量：50% ethanol> ethanol>水，麻油未被檢測出來。
- (4) Sennoside A 含量：50% ethanol> ethanol，水及麻油未被檢測出來。
- (5) Harpagoside 含量：50% ethanol> ethanol> 麻油，水未被檢測出來。
- (6) Cinnamic acid 含量：50% ethanol> ethanol>水>麻油。
- (7) Cinnamaldehyde 含量：ethanol>麻油，50%ethanol 及水未被檢測出來。
- (8) Emodin 含量：50% ethanol> ethanol，水及麻油未被檢測出來。
- (9) Isoimperatorin 含量：ethanol>50% ethanol，水及麻油未被檢測出來。

以上結果顯示太乙膏萃取之最佳溶媒為 50%ethanol，其次為 ethanol，水及麻油之萃取率並不理想。

二、九十一年度

(一) 十全大補藥酒

1. 分析條件

- (1) Column：Inertsil 5 ODS-2，4.6 I.D.×250mm.
- (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，沖提程式如表十二。
- (3) 注入量：20 μ L.
- (4) 流速：1.0 mL/min.
- (5) 檢出波長：UV240nm.
- (6) 溫度：30℃.

2. HPLC 之分離

以 ferulic acid、paeoniflorin、glycyrrhizin、cinnamic acid、cinnamaldehyde 及 calycosin 等為指標成分開發十全大補藥酒之 HPLC

分析方法。由層析圖二二所示，標準方各指標成分之滯留時間各為：白芍 paeoniflorin 之滯留時間為 12.31 分、當歸、川芎 ferulic acid 之滯留時間為 17.53 分、肉桂 cinnamic acid, cinnamaldehyde 之滯留時間分別為 36.41 分及 39.15 分、黃耆 calycosin 之滯留時間分別為 35.41 分、甘草 glycyrrhizin 之滯留時間為 48.79 分、內部標準物質 methylparaben 之滯留時間為 25.56 分，並經標準方缺當歸、川芎、白芍、甘草、肉桂及黃耆之確認在此分離條件下 8 個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（圖二三～二四）。圖二五～二七為六種嘉義大學十全大補藥酒製品之 HPLC 層析圖，亦均顯現良好分離效果。故本分析方法應可做為十全大補藥酒製程及產品品質檢測之條件。

3. 確效試驗

表十三～十四為 intra-day、inter-day 及 recovery 之確效試驗結果。各指標成分在低、中、高濃度之 intra-day 及 inter-day 檢測結果，inter-day 之 CV 值有大於 intra-day 之傾向，整體而言均小於 5%，再現性良好。recovery 檢測則在 $92.30 \pm 0.30 \sim 125.00 \pm 0.25$ 之間，具有良好的回收率。

4. 檢量線之製作

- (1) paeoniflorin 在 $8.0 \sim 128.0 \mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0024x - 0.003 \quad (r = 0.9997, n = 5)$$
- (2) ferulic acid 在 $6.75 \sim 108.0.0 \mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0055x + 0.0017 \quad (r = 1.0000, n = 5)$$
- (3) cinnamic acid 在 $7.75 \sim 124.0 \mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0024x + 0.0018 \quad (r = 0.9999, n = 5)$$
- (4) cinnamaldehyde 在 $62.5 \sim 1,000.0 \mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0026x - 0.0009 \quad (r = 1.0000, n = 5)$$
- (5) glycyrrhizin 在 $129.75 \sim 2,076.0 \mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0007x + 0.0157 \quad (r = 0.9999, n = 5)$$
- (6) calycosin 在 $0.75 \sim 2.0 \mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0198x - 0.0003 \quad (r = 0.9999, n = 5)$$

以上各指標成分之檢量線均可得到良好的直線關係，並可求出各指標成分濃度及含量。

5. 定量結果

- (1) 嘉義大學十全大補藥酒製品之定量結果如下：

根據表十五之定量結果顯示 paeoniflorin、ferulic acid、cinnamic acid、cinnamaldehyde、glycyrrhizine 及 calycosin 等 6 種指標成分均隨浸泡天數及酒精濃度越高含量有越高之傾向。整體而言以 30℃之萃取溫度，萃取 3 天，酒精含量為 70% 時應為十全大補藥酒適當之萃取條件。

(二) 綠云膏

1. 分析條件

- (1) Column：Inertsil 5 ODS-2, 4.6 I.D.×250mm.
- (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，沖提程式如表十六。
- (3) 注入量：20 μ L.
- (4) 流速：1.0 mL/min.
- (5) 檢出波長：UV240 nm.
- (6) 溫度：30℃.

2. HPLC 之分離

以 berberine、coptisine、emodin、sennoside A、harpagoside、baicalin 及 baicalein 等七種成分為指標成分，已開發綠云膏之 HPLC 分析方法。由層析圖二八所示，標準方各指標成分之滯留時間各為：黃連、黃柏 coptisine, berberine 之滯留時間分別為 31.80 分及 53.35 分、大黃 sennoside A, emodin 之滯留時間分別為 65.85 分及 114.67 分、元蓼 harpagoside 之滯留時間為 87.76 分、黃芩 baicalin, baicalein 之滯留時間分別為 80.75 分及 102.99 分，內部標準物質 thymol 為 110.52 分，並經標準方缺黃連、黃柏、大黃、元蓼及黃芩之確認，在此分離條件下顯示七個指標成分之波峰未受到方劑中其他成分干擾，且均有良好分離效果（圖二九～三十）。圖三一～三二各為綠云膏麻油萃取、ethanol 萃取、50% ethanol 萃取、水萃取、油性貼布及水性貼布之 HPLC 層析圖，亦均顯現良好分離效果。故本分析方法應可做為綠云膏製程及產品品質檢測之條件。

3. 確效試驗

表十七、十八為 intra-day、inter-day 及 recovery 之確效試驗結果。各指標成分在低、中、高濃度之 intra-day 及 inter-day 檢測結果，inter-day 之 CV 值有大於 intra-day 之傾向，整體而言均小於 5%，再現性良好。

recovery 檢測則在 $90.63 \pm 0.85 \sim 121.83 \pm 0.37$ 之間，具有良好的回收率。

4. 檢量線之製作

- (1) coptisine 在 $80.0 \sim 2.5 \mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0406 x - 0.4600 \quad (r = 0.9997, n = 5)$$
- (2) berberine 在 $240.0 \sim 7.5 \mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.2790 x + 0.0296 \quad (r = 0.9992, n = 5)$$
- (3) sennoside A 在 $120.0 \sim 3.75 \mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0078 x + 0.0059 \quad (r = 0.9996, n = 5)$$
- (4) baicalin 在 $350.0 \sim 10.94 \mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0210 x + 0.0364 \quad (r = 0.9991, n = 5)$$
- (5) harpagoside 在 $35.0 \sim 1.09 \mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0028 x - 0.0018 \quad (r = 0.9994, n = 5)$$
- (6) baicalein 在 $350.0 \sim 10.94 \mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0237 x + 0.0075 \quad (r = 0.9993, n = 5)$$
- (7) emodin 在 $350.0 \sim 10.94 \mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 0.0181x + 0.0449 \quad (r = 0.9987, n = 5)$$

以上各指標成分之檢量線均可得到良好的直線關係，並可求出各指標成分濃度及含量。

5. 定量結果

表十九、二十為綠云膏四種不同溶媒萃取及高雄醫學大學製造之兩種貼布，其 7 種指標成分含量分析之結果，分述如下：

- (1) 綠云膏四種不同溶媒萃取之 7 種指標成分含量結果如下：

Coptisine：50% ethanol > ethanol > 水 > 麻油

Berberine：50% ethanol > ethanol > 水 > 麻油

Sennoside A：50% ethanol > ethanol > 水 > 麻油

Baicalin：50% ethanol > ethanol > 水 > 麻油

Harpagoside：ethanol > 50% ethanol > 水 > 麻油

Baicalein：50% ethanol > ethanol > 麻油 > 水

Emodin：50% ethanol > ethanol > 水 > 麻油

以上結果顯示綠云膏之最佳溶媒為 50%ethanol，其次為 ethanol。

(2) 高雄醫學大學製造兩種貼布之成分含量變化

- a. 水性貼布：在 HPLC 層析圖中可偵測到 berberine、sennoside A、baicalein 及 emodin 等四種成分，其含量為 $0.009 \pm 1.37 \sim 0.061 \pm 2.59$ mg/one piece。
- b. 油性貼布：在 HPLC 層析圖中可偵測到 copetisine、berberine、sennoside A、baicalein 及 emodin 等五種成分，其含量為 $0.003 \pm 0.67 \sim 0.024 \pm 1.54$ mg/one piece。

三、九十二年度

(一) 如意金黃散分析條件

1. Column：Inertsil 5 ODS-2，4.6 I.D.×250mm.
2. 移動相：10%及 70% acetonitrile（各以磷酸調其 pH 值為 2.8）進行梯度沖提，沖提程式如表二一。
3. 注入量：20 μ L.
4. 流速：1.0 mL/min.
5. 檢出波長：0~72 分鐘設定為 UV 275nm，73~105 分鐘為 UV 250nm，106~145 分鐘為 UV 220nm.
6. 溫度：30℃.

(二) HPLC之分離

以 berberine、emodin、sennoside A、sennoside B、curcumin、imperatorin、magnolol、hesperidin 及 glycyrrhizin 等九種成分為指標成分，已開發如意金黃散之 HPLC 分析方法。由層析圖三三所示，標準方各指標成分之滯留時間各為：黃柏 berberine 之滯留時間為 48.51 分、大黃 sennoside B, sennoside A, emodin 之滯留時間分別為 55.51 分、69.64 分及 108.92 分、薑黃 curcumin 之滯留時間為 103.39 分及 102.99 分、白芷 imperatorin 之滯留時間為 111.14 分、厚朴 magnolol 之滯留時間為 113.63 分、陳皮 hesperidin 之滯留時間為 68.96 分及甘草 glycyrrhizin 之滯留時間為 95.25 分，內部標準物質 paeonol 為 84.34 分，並經標準方缺黃柏、大黃、薑黃、白芷、厚朴、陳皮及甘草之確認，且各指標成分之波峰純度經 PDA detector 確認均達到可接受範圍，顯示在此分離條件下顯示七個指標成分之波峰未受到方劑中其他成分干擾，且均有良好分離效果（圖三四~三六）。圖三七~三

八各為綠云膏麻油萃取、ethanol 萃取、50% ethanol 萃取、水萃取、油性貼布及水性貼布之 HPLC 層析圖，亦均顯現良好分離效果。故本分析方法應可做為如意金黃散製程及產品品質檢測之條件。

(三) 確效試驗

表二二、二三為 intra-day、inter-day 及 recovery 之確效試驗結果。各指標成分在低、中、高濃度之 intra-day 及 inter-day 檢測結果，inter-day 之 CV 值有大於 intra-day 之傾向，整體而言均小於 5%，再現性良好。recovery 檢測則在 $93.30 \pm .30 \sim 113.63 \pm 0.79$ 之間，具有良好的回收率。

(四) 檢量線之製作

- (1) Berberine 在 6.25~200.0 $\mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 52535x - 239370 \quad (r = 0.9996, n = 5)$$
- (2) Sennoside B 在 0.625~20.0 $\mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 19639x + 1474.3 \quad (r = 0.9998, n = 5)$$
- (3) Hesperidin 在 8.75~280.0 $\mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 10572x + 16107 \quad (r = 0.9996, n = 5)$$
- (4) Sennoside A 在 5.0~160.0 $\mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 31924x + 11422 \quad (r = 0.9997, n = 5)$$
- (5) Glycyrrhizin 在 7.5~240 $\mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 8419.5x - 2156.8 \quad (r = 0.9994, n = 5)$$
- (6) Curcumin 在 11.25~360.0 $\mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 29157x + 1446.6 \quad (r = 0.9999, n = 5) \quad (\text{high concentration})$$

$$y = 29847x + 12923 \quad (r = 0.9999, n = 5) \quad (\text{low concentration})$$
- (7) Emodin 在 1.875~60.0 $\mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 103744x + 41739 \quad (r = 0.9997, n = 5)$$
- (8) Imperatorin 在 1.875~60.0 $\mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 99604x + 54304 \quad (r = 0.9995, n = 5)$$
- (9) Magnolol 在 1.25~40.0 $\mu\text{g/mL}$ 濃度範圍標準曲線方程式為

$$y = 122994x + 23162 \quad (r = 0.9999, n = 5)$$

以上各指標成分之檢量線均可得到良好的直線關係，並可求出各指標成分濃度及含量。

(五) 定量結果

表二四、二五為如意金黃散四種不同溶媒萃取及高雄醫學大學製造之兩種貼布，其九種指標成分含量分析之結果，分述如下：

1. 四種不同溶媒萃取之成分含量變化

Berberine：50% ethanol>ethanol>水>麻油

Sennoside B：50% ethanol>ethanol>水>麻油

Hesperidin：50% ethanol>ethanol>水>麻油

Sennoside A：50% ethanol>ethanol>水>麻油

Glycyrrhizin：50% ethanol>ethanol>水>麻油

Curcumin：ethanol>50% ethanol>水>麻油

Emodin：麻油>ethanol>50%ethanol>水

Imperatorin：ethanol>50% ethanol>水>麻油

Magnolol：ethanol>50% ethanol>水>麻油

以上結果顯示如意金黃散之最佳溶媒為 50%ethanol，其次為 ethanol。

2. 高雄醫學大學製造兩種貼布之成分含量變化

(1) 水性貼布：在 HPLC 層析圖中可偵測到 berberine、hesperidin、sennoside A、glycyrrhizin、emodin 及 magnolol 等六種成分，其含量為 $0.09\pm 1.06\sim 0.80\pm 0.23$ mg/one piece。

(2) 油性貼布：在 HPLC 層析圖中可偵測到 berberine、sennoside B、hesperidin、glycyrrhizin、emodin、curcumin 及 magnolol 等七種成分，其含量為 $0.002\pm 4.32\sim 2.32\pm 0.78$ mg/one piece。

伍、結論與建議

一、結論

(一) 九十年度

1.金門龍鳳酒

- (1) 以五味子 (gomisin A, schizandrin)、山萸肉 (loganin)、肉桂 (cinnamic acid, cinnamaldehyde)、當歸 (scopoletin, ferulic acid) 等七種成分為指標成分，內部標準物質為 nobiletin，開發金門龍鳳酒之 HPLC 分析方法並經 intra-day、inter-day 及 recovery 等確效試驗、顯示其準確度及再現性良好，是值得信賴且穩定的分析方法，可應用於分析金門龍鳳酒之製程及產品間成分之變化，達到品質管制之目的。
- (2) 不同溫度萃取、不同萃取溶媒倍數及嘉義大學所製作之金門龍鳳酒等檢品之定量分析結果顯示，雖然 gomisin A, schizandrin 會隨溫度越高含量有越低之趨勢，其他成分則均呈現溫度越高含量越高，整體而言萃取溫度對成分之釋出是比較有利。萃取溶媒體積為藥材量之 8~12 倍時成分之釋出已達最高，應是最適之萃取溶媒體積。嘉義大學所製作之金門龍鳳酒顯示萃取溫度 30℃，萃取時間為 30 天，酒精含量 50% 為適當之製造條件。

2.萬應膏

- (1) 以川烏、草烏 (aconitine)、肉桂 (cinnamic acid, cinnamaldehyde)、白芷 (isoimperatorin)、當歸 (ferulic acid)、赤芍藥 (paeoniflorin)、甘草 (glycyrrhizin)、元參 (harpagoside)、大黃 (emodin, sennoside A) 等為指標成分，開發萬應膏之 HPLC 分析方法並經 intra-day、inter-day 及 recovery 等確效試驗、顯示其準確度及再現性良好，是值得信賴且穩定的分析方法，可應用於分析萬應膏之貼布製程及產品間成分之變化，達到品質管制之目的。
- (2) 萬應膏萃取之最佳溶媒為 ethanol，其次為 50% ethanol。

3.太乙膏

- (1) 以肉桂 (cinnamic acid, cinnamaldehyde)、元參 (harpagoside)、白芷 (isoimperatorin)、赤芍藥 (paeoniflorin)、當歸 (ferulic acid)、大黃 (emodin, sennoside A) 等為指標成分，開發太乙膏之 HPLC 分析方法並經 intra-day、inter-day 及 recovery 等確效試驗、顯示其準確度及再現性良好，是值得信賴且穩定的分析方法，可應用於分析太乙膏之貼布製程及產品間成分之變化，達到品質管制之目的。
- (2) 太乙膏萃取之最佳溶媒為 50% ethanol，其次為 ethanol。

(二) 九十一年度

1.十全大補藥酒

- (1) 以當歸、川芎 (ferulic acid)、白芍 (paeoniflorin)、甘草 (glycyrrhizin)、肉桂 (cinnamic acid, cinnamaldehyde)、黃耆 (calycosin) 以及內部標準物質 (methylparaben) 等六種成分為指標成分開發十全大補藥酒之 HPLC 分析方法並經 intra-day、inter-day 及 recovery 等確效試驗、顯示其準確度及再現性良好，是值得信賴且穩定的分析方法，可應用於分析十全大補藥酒之製程及產品間成分之變化，達到品質管制之目的。
- (2) 嘉義大學所製作之十全大補藥酒等檢品之定量分析結果顯示，6 種指標成分均隨浸泡天數及酒精濃度越高含量有越高之傾向。整體而言以 30°C 之萃取溫度，萃取 90 天，酒精含量為 70% 時應為十全大補藥酒適當之萃取條件。

2. 綠云膏

- (1) 綠云膏以黃連、黃柏 (berberine, coptisine)、大黃 (emodin, sennoside A)、元參 (harpagoside)、黃芩 (baicalin, baicalein) 以及內部標準物質 thymol 等為指標成分，開發綠云膏之 HPLC 分析方法並經 intra-day、inter-day 及 recovery 等確效試驗、顯示其準確度及再現性良好，是值得信賴且穩定的分析方法，可應用於分析綠云膏之貼布製程及產品間成分之變化，達到品質管制之目的。
- (2) 綠云膏萃取之最佳溶媒為 50% ethanol，其次為 ethanol。

(三) 九十二年度

1. 如意金黃散以黃柏 (berberine)、大黃 (emodin, sennoside A, sennoside B)、薑黃 (curcumin)、白芷 (imperatorin)、厚朴 (magnolol)、陳皮 (hesperidin) 及甘草 (glycyrrhizin) 等九種成分為指標成分，及以 thymol 為內部標準物質，開發如意金黃散之 HPLC 分析方法並經 intra-day、inter-day 及 recovery 等確效試驗、顯示其準確度及再現性良好，是值得信賴且穩定的分析方法，可應用於分析如意金黃散之貼布製程及產品間成分之變化，達到品質管制之目的。
2. 如意金黃散萃取之最佳溶媒為 50% ethanol，其次為 ethanol。

二、建議

- (一) 目前公告之藥酒標準方，無論其藥材量多寡皆添加原料酒至 1 mL，但不同方劑間藥材量之差異可達 20 倍。本計畫之成果中金門龍鳳酒之原料酒最適添加量為藥材量之 8~12 倍，若將來重新修正藥酒標準方，應有參考之價值。
- (二) 目前公告之藥酒製造方法以冷浸法或滲漉法為主，本計畫之成果中金門

龍鳳酒之萃取，整體而言萃取溫度對成分之釋出是比較有利，若能配合藥理試驗或毒理試驗，證明其有效性及安全性，可建議考慮開放加熱法以縮短製造時程。

- (三) 傳統藥膠布之萃取溶媒以麻油為主，本計畫之成果中萬應膏、太乙膏、綠云膏及萃取之最佳溶媒皆為 ethanol 或 50% ethanol，而麻油之萃取並不理想，若能配合藥理試驗或毒理試驗，證明其有效性及安全性，可建議考慮開放以 ethanol 或 50% ethanol 萃取製造產品。

2

陸、參考文獻

1. 實用中醫辭典，中國中醫研究院、廣州中醫學院主編，知音出版社，1996，p. 129，784.
2. Lockwood, G.B. The major constituents of the essential oils of *Cinnamomum cassia* Blume growing in Nigeria. *Planta Medica*. 1979. 36 (4) 380-381.
3. Kakinuma, K. Koike, J. Kotami, K. Ikekawa, N. Kada, T. Nomoto, M. Cinnamaldehyde: identification of an antimutagen from a crude drug, cinnamoni cortex (*Cinnamomum cassia*) . *Agricultural & Biological Chemistry*. 1984. 48 (7) : 1905-1906.
4. Takahashi, S., Hikino, H. and Sasaki, Y. Studies on Umbelliferous plants. I X. Studies on "Toki". (9) . Components of the Root of *Angelica acutiloba* and *A. acutiloba* var. *sugiyamae*. *Yakugaku Zasshi*. 1958. 79 : 1156-1159.
5. Mitsuhashi, H., Nagai, U., and Muramatsu, T. Studies on the coctituents of Umbelliferae plants. III. Structure of ligustilide. *Chem. Pharm. Bull*. 1961. 9 : 115-119.
6. Mitsuhashi, H., Muramatsu, T., Nagai, U., Nakano, T., and Ueno, K. Studies on the coctituents of Umbelliferae plants. V III. Distribution of alkylphthalides in Umbelliferae plants. *Chem. Pharm. Bull*. 1963. 11 (10) : 1317-1319.
7. Bohrmann, H., Stahl, E., and Mitsuhashi, H. Studies on the coctituents of Umbelliferae plants. X III. Chromatographic studies on the coctituents of

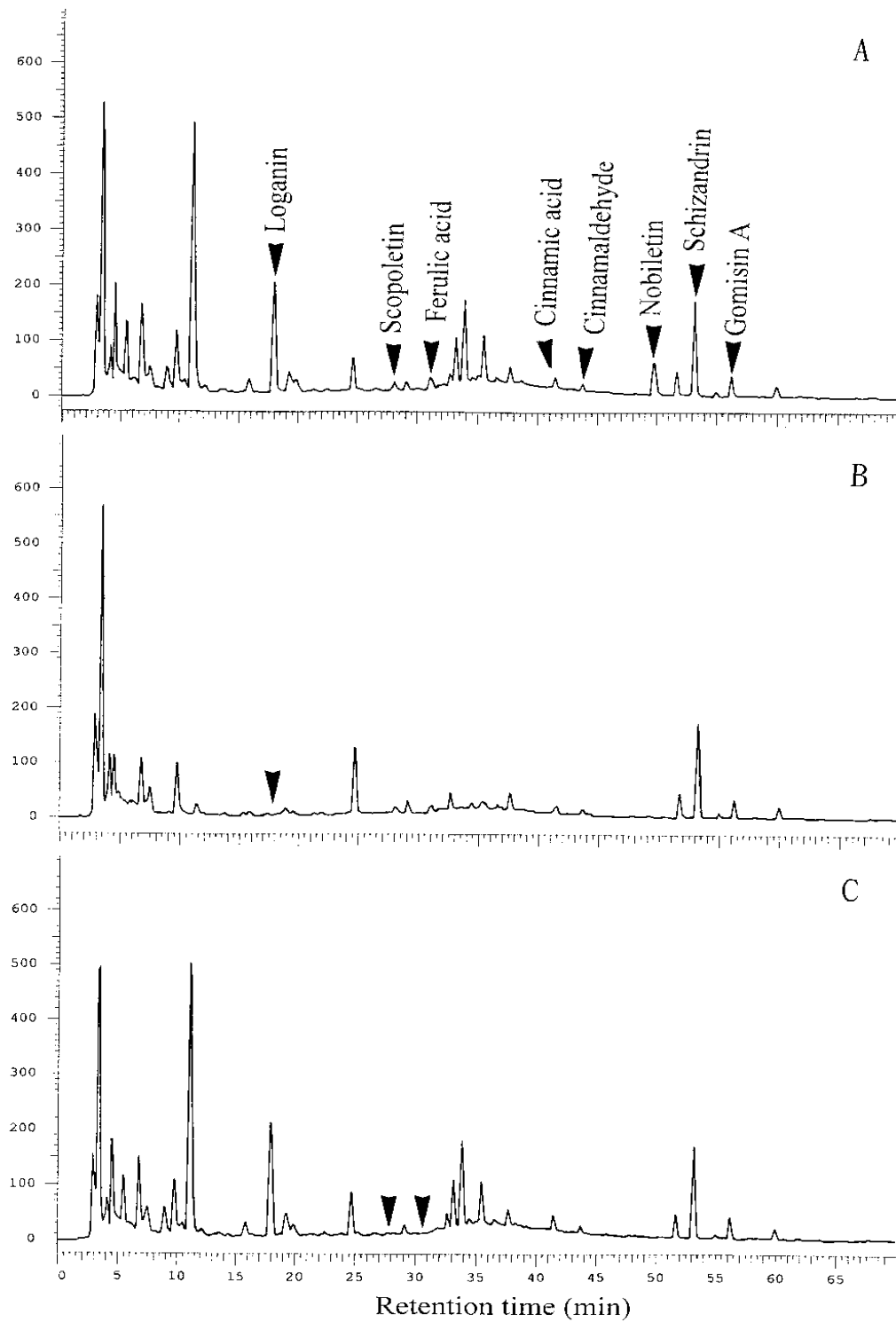
- Cnidium officinale* Makino. *Chem. Pharm. Bull.* 1967. 15 (10) : 1606-1608.
8. Ruo, T. I., Wu, T. Y. and Yang, Y. Y. Comparison of chemical composition and effect on animal feeding of native and imported. *Journal of Chinese Agricultural Chemical Society* 1967. 5 (3,4) : 93-99.
 9. Yamagishi, T., Kaneshima, H., Kinoshita, Y. and Mori, M. Studies on the standardization of crude drugs produced in Hokkaido (part 5). On the existence of Ligustilide in *Angelicae Radix* (Touki) . *Ann. Rep. Hokkaido Metr. Res. Lab. P. H.* 1974. 24: 47-51.
 10. Yamagishi, T., Kaneshima, H., Kinoshita, Y. and Honma, S. Studies on the standardization of crude drugs produced in Hokkaido (part 7) . The ether soluble components of *Angelicae Radix* (Touki) . *Ann. Rep. Hokkaido Metr. Res. Lab. P. H.* 1975. 25 : 21-24.
 11. Yamagishi, T., Kaneshima, H., Kinoshita, Y. and Honma, S. Studies on the standardization of crude drugs produced in Hokkaido (part 8). The comparison quality and components of Touki cultivated in different places. *Ann. Rep. Hokkaido Metr. Res. Lab. P. H.* 1975. 25 : 25-29.
 12. Lin, M., Ju, C. D, Sun, C. M. and Fang, C. C. Studies on the chemical component of *Angelica sinensis* Diels. *Acta Pharmaceutica Sinica.* 1979. 14(9): 529-534.
 13. Fang, H. G., Lu, R. M., Liu, G. S. and Liu, T. C. Studies on the components of essential oils. *Acta Pharmaceutica Sinica.* 1979. 14 (10) : 617-623.
 14. Lu, R. M., Ho, L. Y., Fang, H. G. and Zhang², X. Q. Thin layer chromatography and densitometry of ligustilide in Umbelliferae plants. *Acta Pharmaceutica Sinica.* 1980. 15 (6) : 371-374.
 15. Konno, C. Murayama, M. Sugiyama, K. Arai, M. Murakami, M. Takahashi, M. Hikino, H. Isolation and hypoglycemic activity of aconitans A, B, C and D, glycans of *Aconitum carmichaeli* roots. *Planta Medica.* 1985. 51 (2) : 160-161.
 16. Hikino, H. Murakami, M. Konno, C. Watanabe, H. Determination of aconitine alkaloids in *Aconitum* roots (*Aconitum carmichaeli*, *Aconitum japonicum*) . *Planta Medica.* 1983. 48 (2) : 67-71.
 17. Qiao, S.Y. Yao, X.S. Wang, Z.Y. Coumarins of the roots of *Angelica dahurica*. *Planta Medica.* 1996. 62 (6) : 584.

18. Wu, H.K. Sheu, S.J. Capillary electrophoretic determination of the constituents of *Paeoniae Radix*. *Journal of Chromatography*. 1996. 753 (1) : 139-146.
19. Okuyama, T. Takata, M. Takahashi, K. Ishikawa, T. Miyasaka, K. Kaneyama, N. High-performance liquid chromatographic analysis of naturally occurring glycosides and saponins. *Journal of Chromatography*. 1989. 466 : 390-398.
20. Huang, H.Y. Kuo, K.L. Hsieh, Y.Z. 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. 1997. *Journal of Chromatography*. 771 (1/2) : 267-274.
21. Usai, M. Picci, V. Atzei, A.D. Glycyrrhizin variability in subterranean organs of Sardinian *Glycyrrhiza glabra* subspecies *Glabra* var. *glabra*. *Journal of Natural Products*. 1995. 58 (11) : 1727-1729.
22. Chen, H.R. Sheu, S.J. Determination of glycyrrhizin and glycyrrhetic acid in traditional Chinese medicinal preparations by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography*. 1993. 653 (1) : 184-188.
23. Fenwick, G.R. Lutonski, J. Nieman, C. Liquorice, *Glycyrrhiza glabra* L. — composition, uses and analysis. *Food Chemistry*. 1990. 38 (2) : 119-143.
24. Li, Y.M. Jiang, S.H. Gao, W.Y. Zhu, D.Y. Iridoid glycosides from *Scrophularia ningpoensis*. *Phytochemistry*. 1999. 50 (1) : 101-104.
25. Nass, R. Rimpler, H. Distribution of iridoids in different populations of *Physostegia virginiana* and some remarks on iridoids from *Avicennia officinalis* and *Scrophularia ningpoensis*. *Phytochemistry*. 1996. 41 (2) : 489-498.
26. Yim, H. Lee, Y.H. Lee, C.H. Lee, S.K. Emodin, an anthraquinone derivative isolated from the rhizomes of *Rheum palmatum*, selectively inhibits the activity of casein kinase II as a competitive inhibitor. *Planta Medica*. 1999. 65 (1) : 9-13.
27. Ohshima, Y. Takahashi, K. Shibata, S. Tissue culture of rhubarb and isolation of sennosides from the callus. *Planta Medica*. 1988. 54 (1) : 20-24.
28. Kajimoto, T. Yahiro, K. Nohara, T. Sesquiterpenoid and disulphide derivatives from *Ferula assa-foetida*. *Phytochemistry*. 1989. 28 (6) : 1761-1763.
29. Buddrus, J. Bauer, H. Abu-Mustafa, E. Khattab, A. Mishaal, S. El-Khrisy,

- E.A.M. Linscheid, M. Foetidin a sequiterpenoid coumarin from *Ferula assa-foetida*. *Phytochemistry*. 1985. 24 (4) : 869-870.
30. 孟寬武、孟聰子、孟慶恆，中國膏藥藥膏膠藥全書，遼寧科學技術出版社。
31. Lin, L. Z., He, X. G., Lindenmaier, M., Nolan, G., Yang, J., Cleary, M., Qui, S. X. 2000. Liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry study of the flavonoids of the roots of *astragalus mongholicus* and *membranaceus*. *Journal of Chromatography A* 876 (1-2) : 95.
32. Ma, X., Zhang, T., Wei, Y., Tu, P., Chen, Y., Ito, Y. 2002. Preparative isolation and purification of calycosin from *astragalus membranaceus* Bge. var. *mongholicus* (Bge) Hsiao by high-speed counter-current chromatography. *Journal of Chromatography A* 962 (1-2) : 243-247.
33. Hattori, T. Kamiya, N. Inoue, M. and Hayakawa, M. 1977. Determination of Berberine in *Coptidis Rhizoma* by High Performance Liquid Chromatography. *Yakugaku Zasshi* 97 (12) : 1305-1308.
34. Ishigawa, O. Hashimoto, T. Nakajima, T. Osawa, T. and Itokawa, H. 1978. Application of High-speed Liquid Chromatography to Analysis of Crude Drugs : Quaternary Alkaloids of *Coptidis Rhizoma* and *Phellodendri Cortex*. *Yakugaku Zasshi* 98 (7) : 976-979.
35. Yoneda, K. Yamagata, E. Miyaura, M. Hua, L. and Mizuno, M. 1987. Quantitative Analysis of Berberine Type Alkaloids and Japanese *Coptidis Rhizoma*. *Shoyakugaku Zasshi* 41 (3) : 205-208.
36. Yoneda, K. Yamagata, E. Hua, L. and Mizuno, M. 1988. Morphological Studies and Constituents of Berberine Type Alkaloids of Chinese *Coptidis Rhizoma*. *Shoyakugaku Zasshi* 42 (2) : 116-121.
37. Nielsen, J.G. 1970. *Tetrahedron letters* 11 : 803.
38. Gupta, A.P. Gupta, M.M. Kumar, S. 1999. Simultaneous determination of curcuminoids in *Curcuma* samples using high performance thin layer chromatography. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* 22 (10) : 1561-1569.
39. He, X.G. Lin, L.Z. Lian, L.Z. Lindenmaier, M. Liquid chromatography-electrospray mass spectrometric analysis of curcuminoids and sesquiterpenoids in turmeric (*Curcuma longa*) . *Journal of Chromatography*

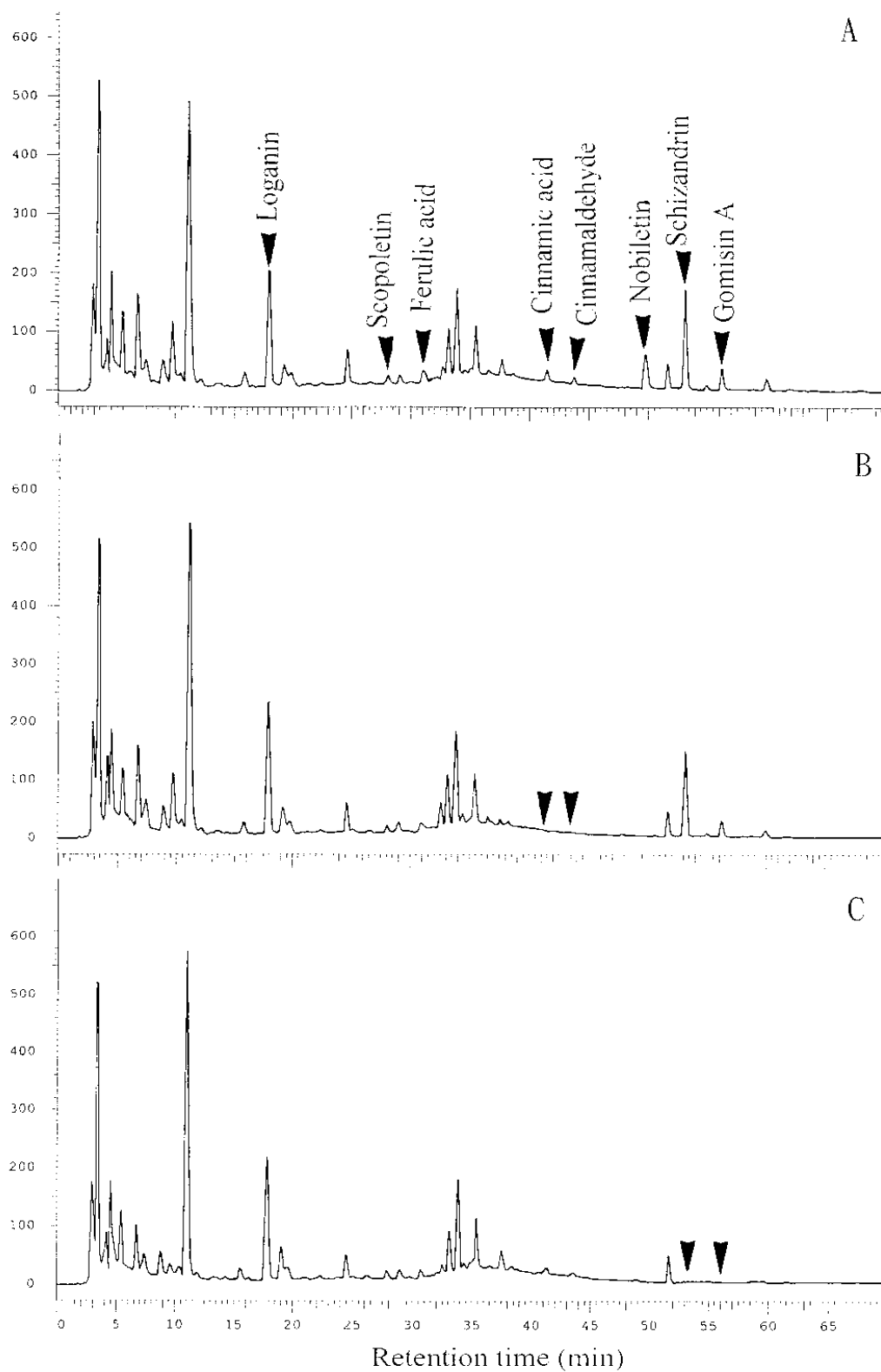
- 818 (1): 127-132.
40. Suto, K. Ito, Y. Sagara, K. Itokawa, H. 1997. Determination of magnolol and honokiol in Magnoliae Cortex using supercritical fluid chromatography on-line coupled with supercritical fluid extraction by on-column trapping. *Journal of Chromatography* 786 (2): 366-370.
41. Chou, C.Y.C. Tsai, T.H. Lin, M.F. Chen, C.F. 1996. Simultaneous determination of honokiol and magnolol in magnolia officinalis by capillary zone electrophoresis. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* 19 (12): 1909-1915.
42. Tsai, T.H. Chen, C.F. 1992. Identification and determination of honokiol and magnolol from Magnolia officinalis by high-performance liquid chromatography with photodiode-array UV detection. *Journal of Chromatography* 598 (1): 143-146.
43. 土田貴志，山本知枝，山本惠一，人見信之，小阪昇，鹿野英士，岡田正道，小松勝子，難波恒雄。1996。 *Nature Medicines* 50 (2): 114-127.
44. 川原一仁，田中俊弘。1996。 *Nature Medicines* 50 (6): 371-377.
45. 土田貴志，山本知枝，山本惠一，人見信之，小阪昇，岡田正道，小松勝子，難波恒雄。1997。 *Nature Medicines* 51 (3): 205-223.
46. 土田貴志，山本知枝，山本惠一，人見信之，小阪昇，岡田正道，小松勝子，難波恒雄。1997。 *Nature Medicines* 51 (3): 231-243.
47. 原田正敏。1989。繁用生藥之成分定量，廣川書店。
48. 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



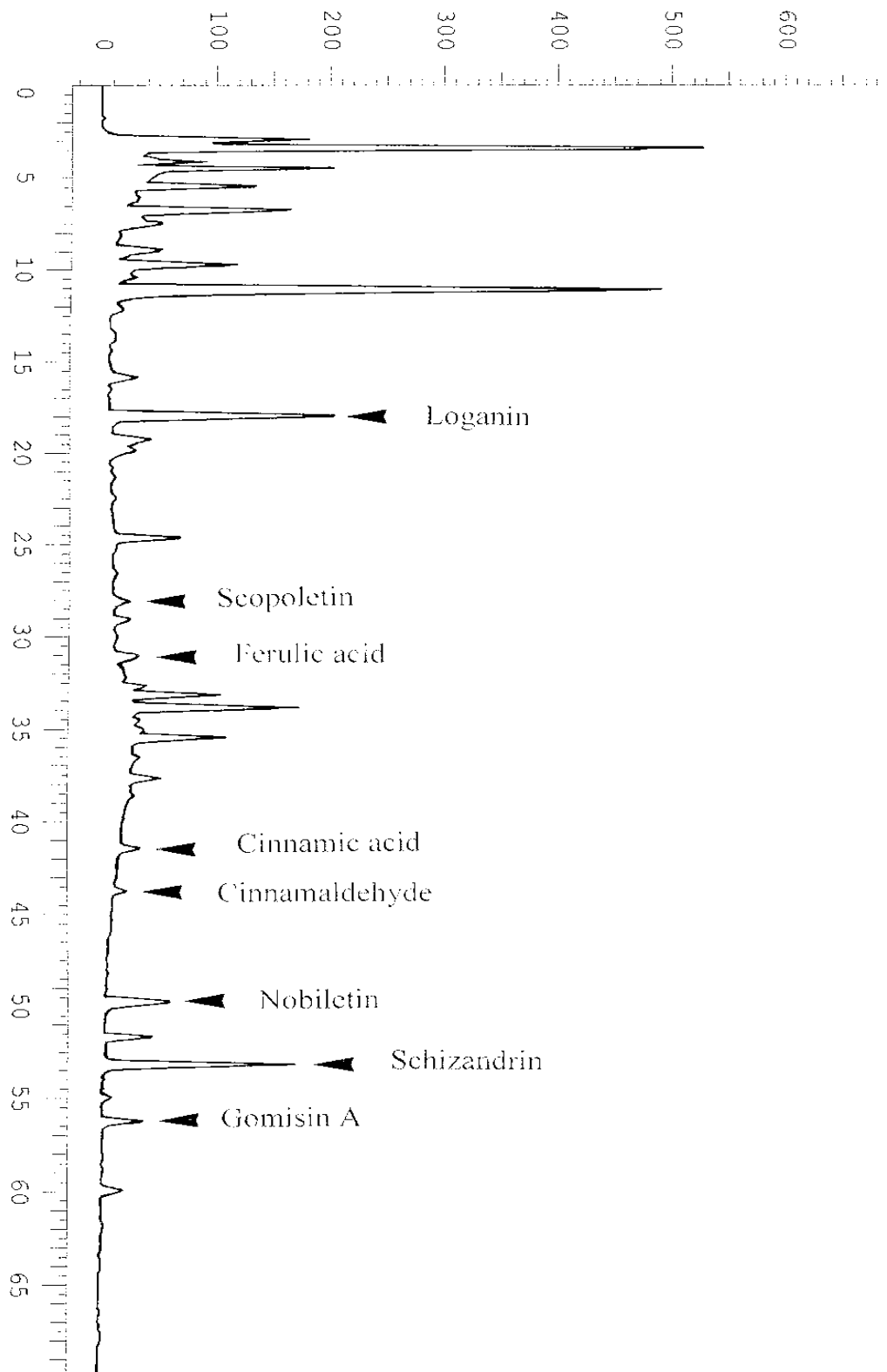
圖一、金門龍鳳酒 HPLC 層析圖

- A. 標準方
- B. 標準方缺山萸肉
- C. 標準方缺當歸

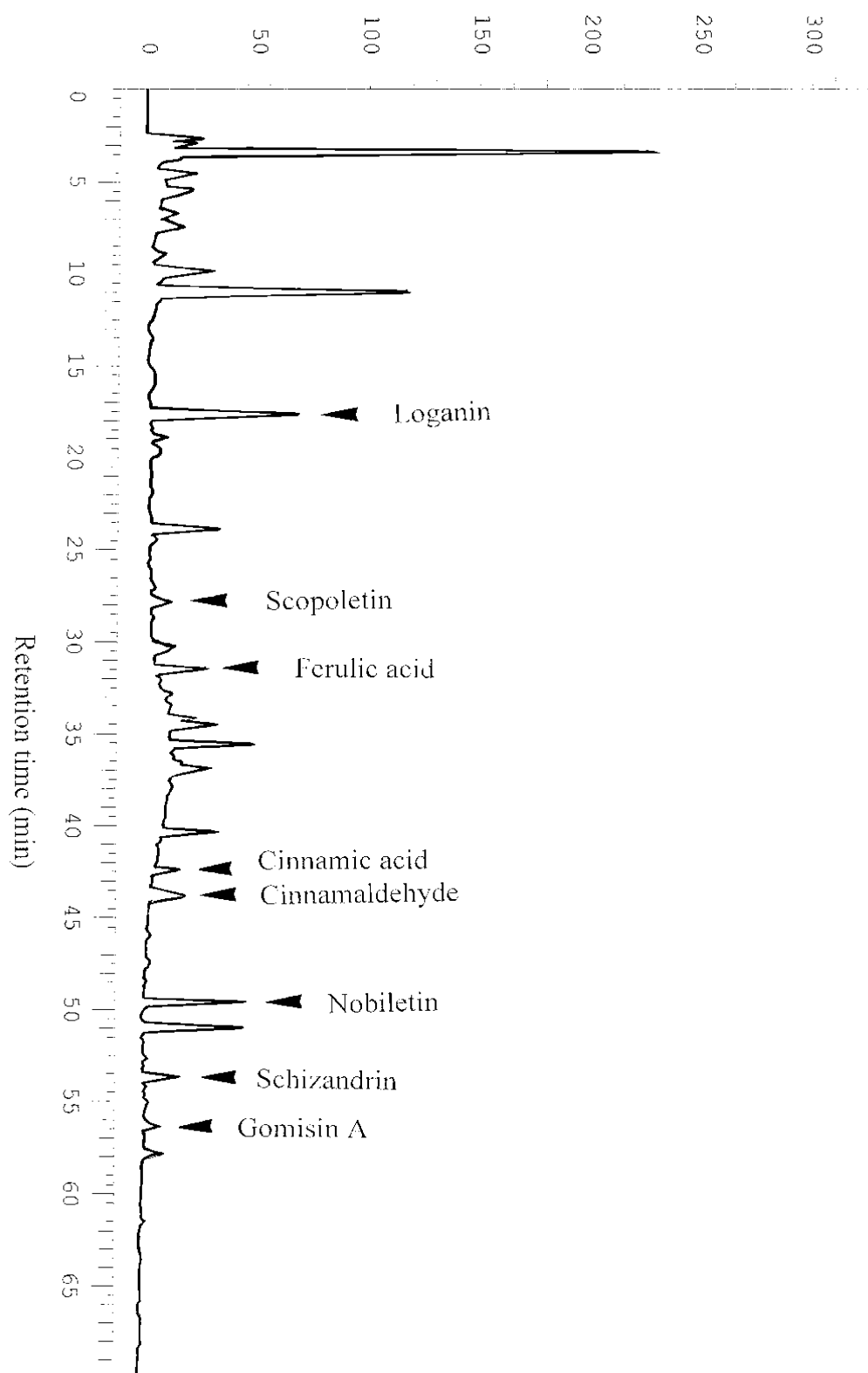


圖二、金門龍鳳酒 HPLC 層析圖

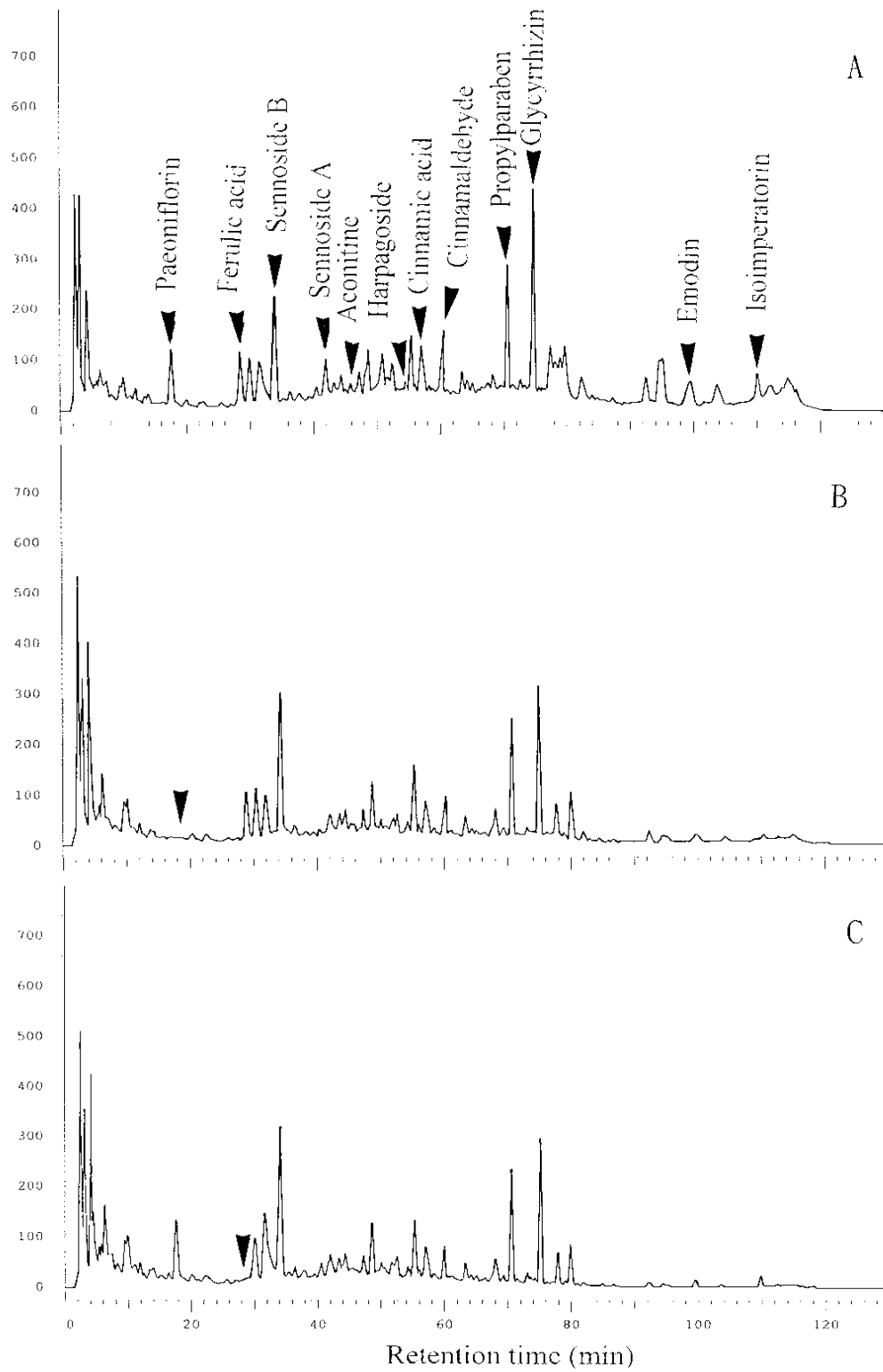
- A. 標準方
- B. 標準方缺肉桂
- C. 標準方缺五味子



圖三、金門龍鳳酒 50%酒精萃取 HPLC 層析圖

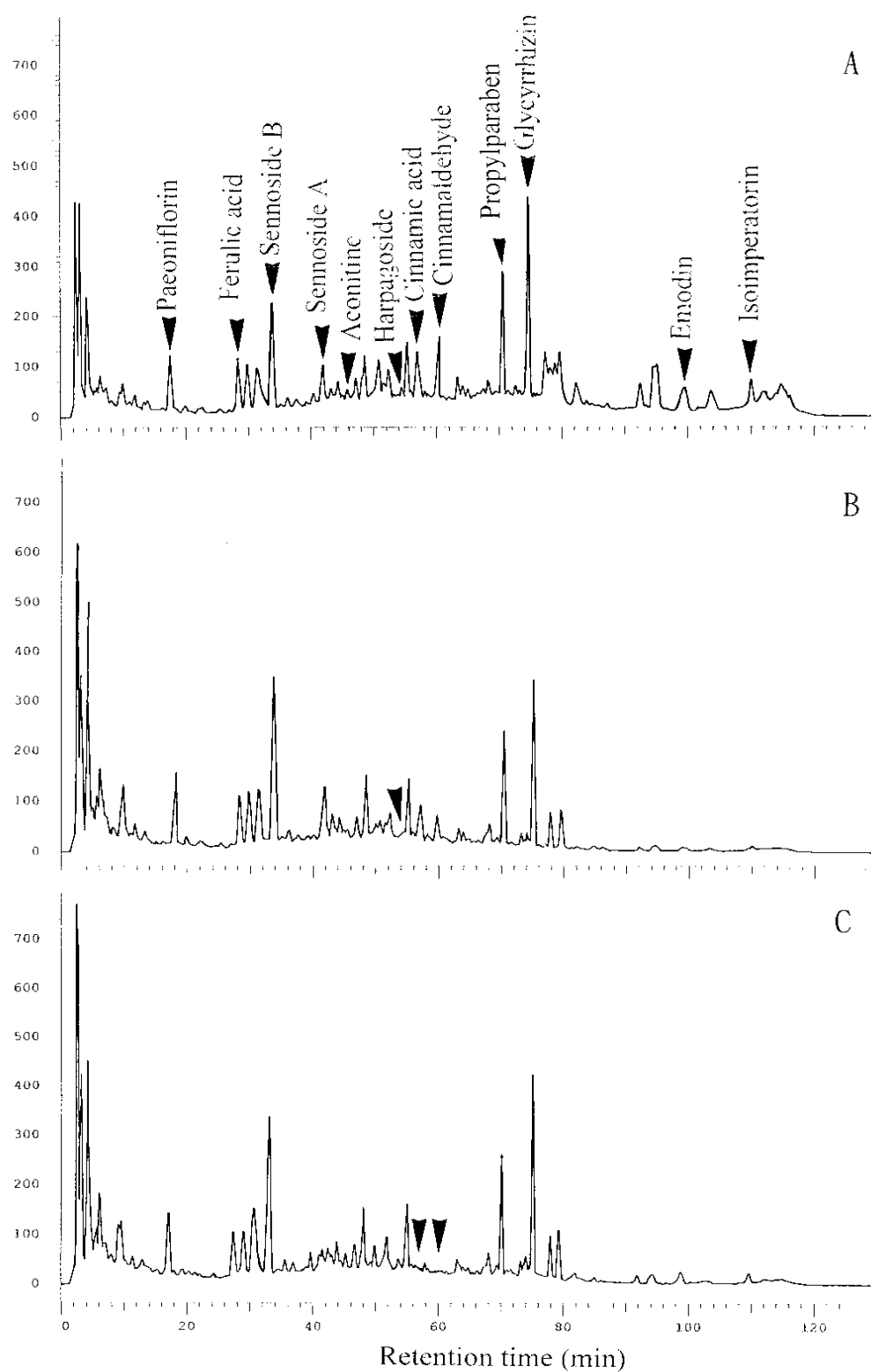


圖四、嘉義大學金門龍鳳酒 HPLC 層析圖 (30°C 60 天 50%)



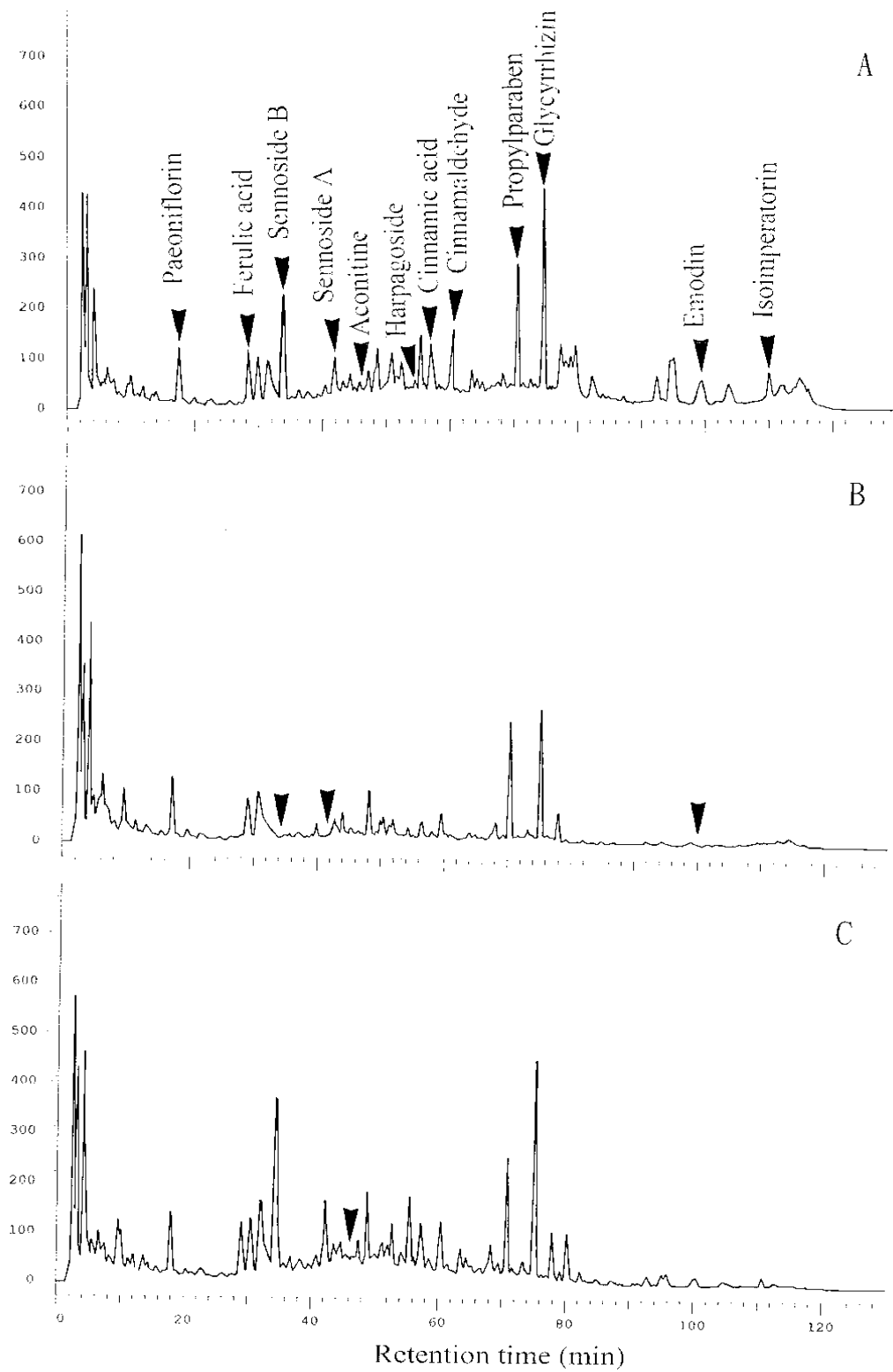
圖五、萬應膏 HPLC 層析圖譜

- A. 標準方
- B. 標準方缺赤芍藥
- C. 標準方缺當歸



圖六、萬應膏 HPLC 層析圖譜

- A. 標準方
- B. 標準方缺元蓼
- C. 標準方缺肉桂

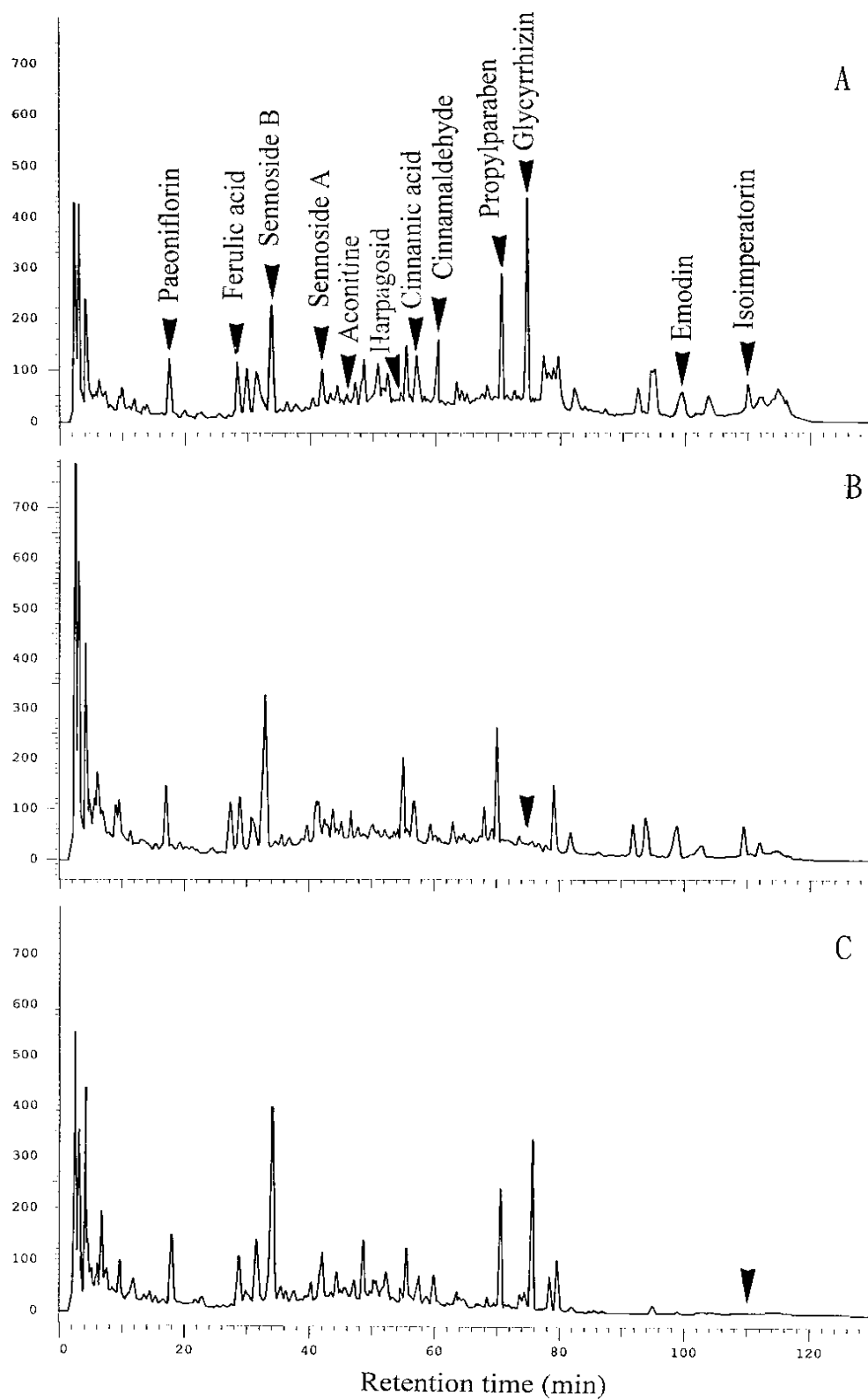


圖七、萬應膏 HPLC 層析圖譜

A. 標準方

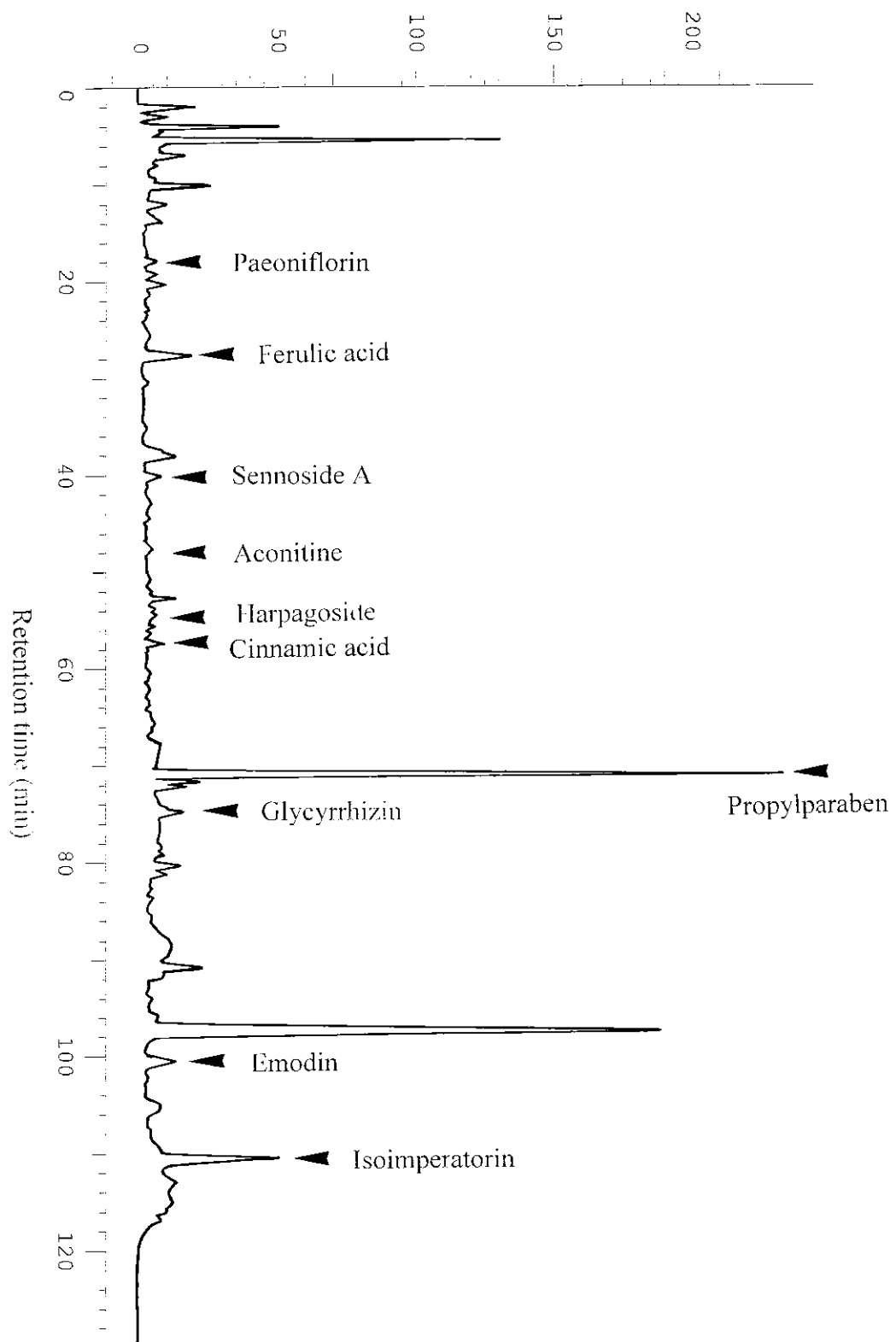
B. 標準方缺大黃

C. 標準方缺川烏、草烏

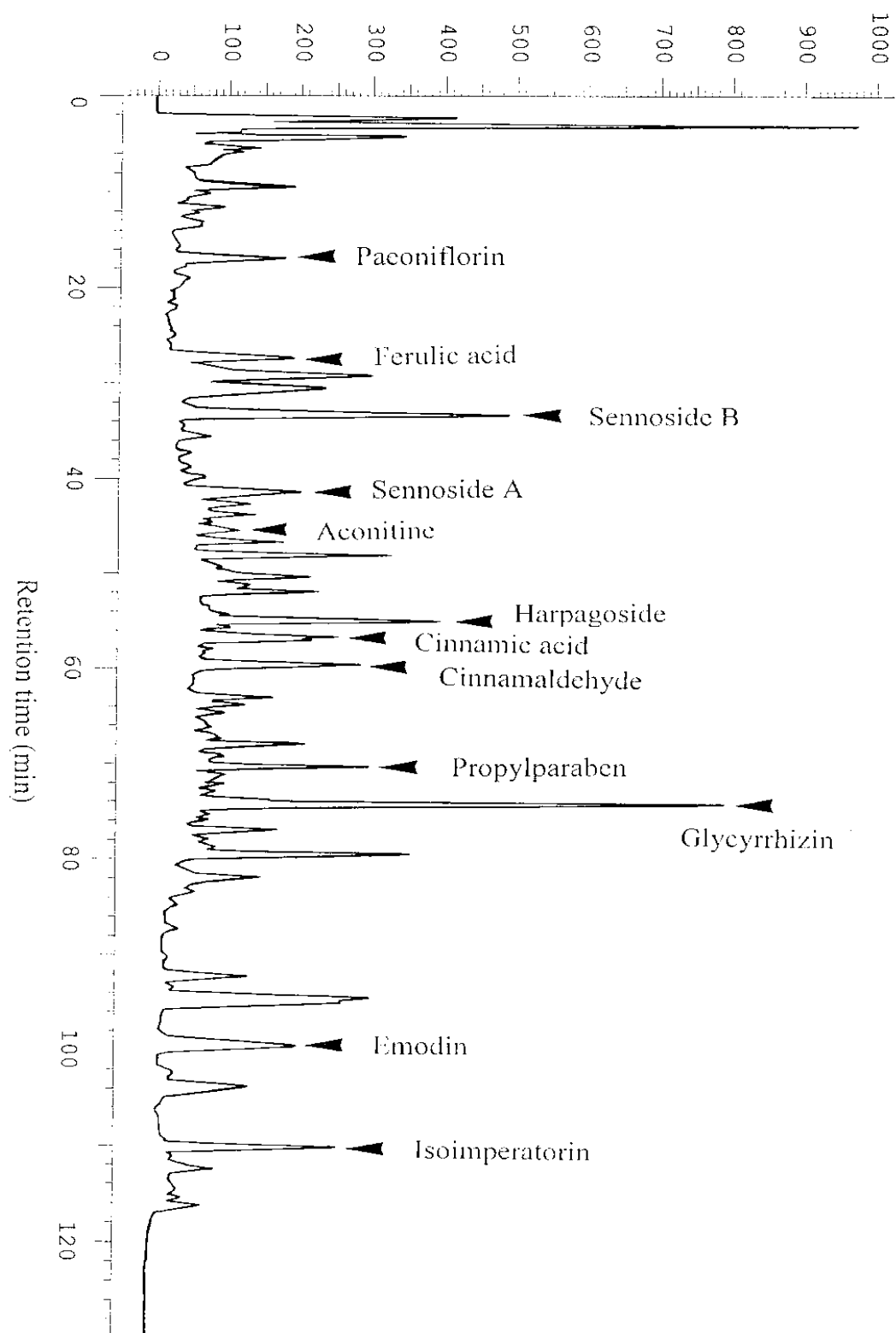


圖八、萬應膏 HPLC 層析圖譜

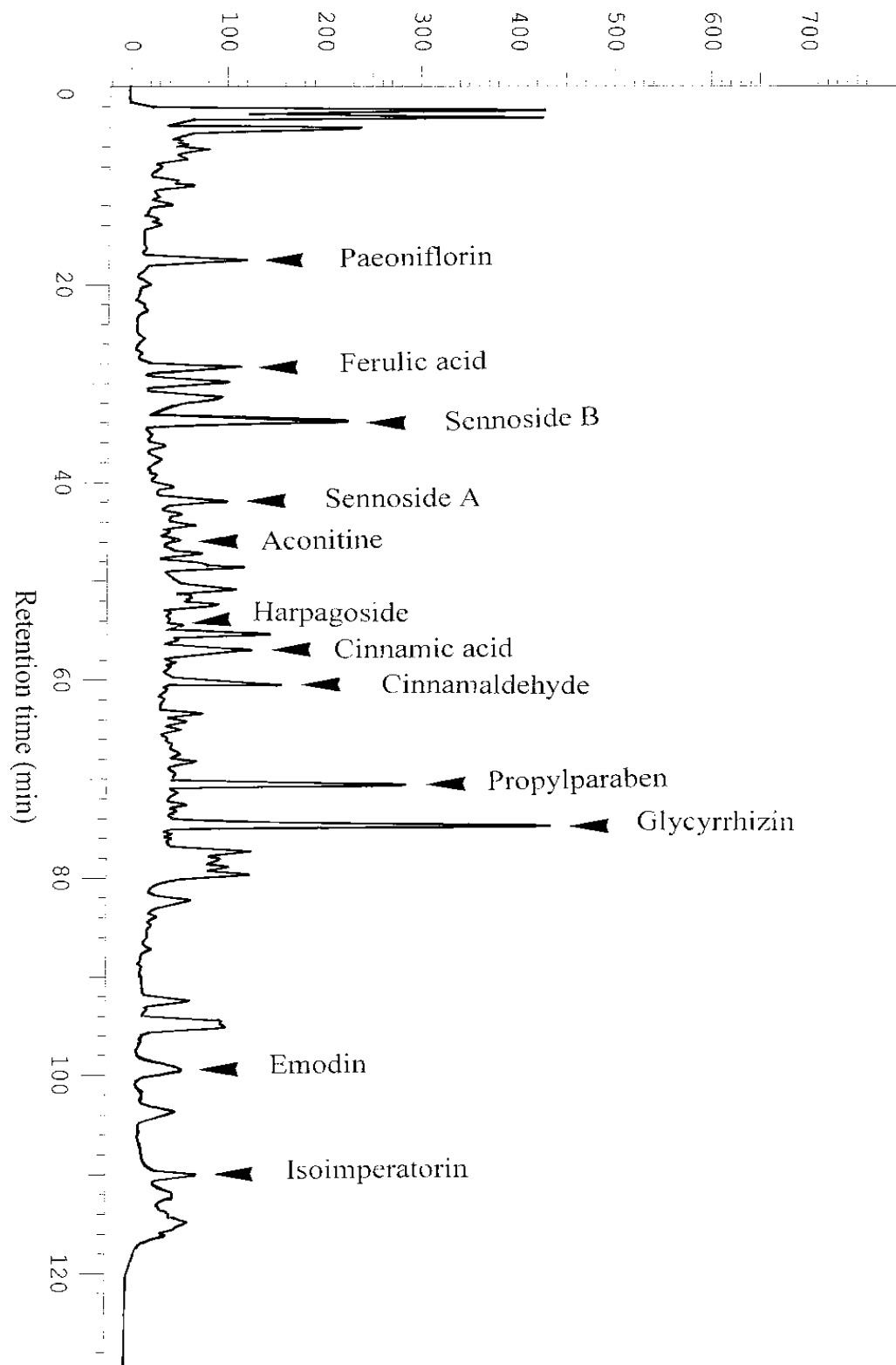
- A. 標準方
- B. 標準方缺甘草
- C. 標準方缺白芷



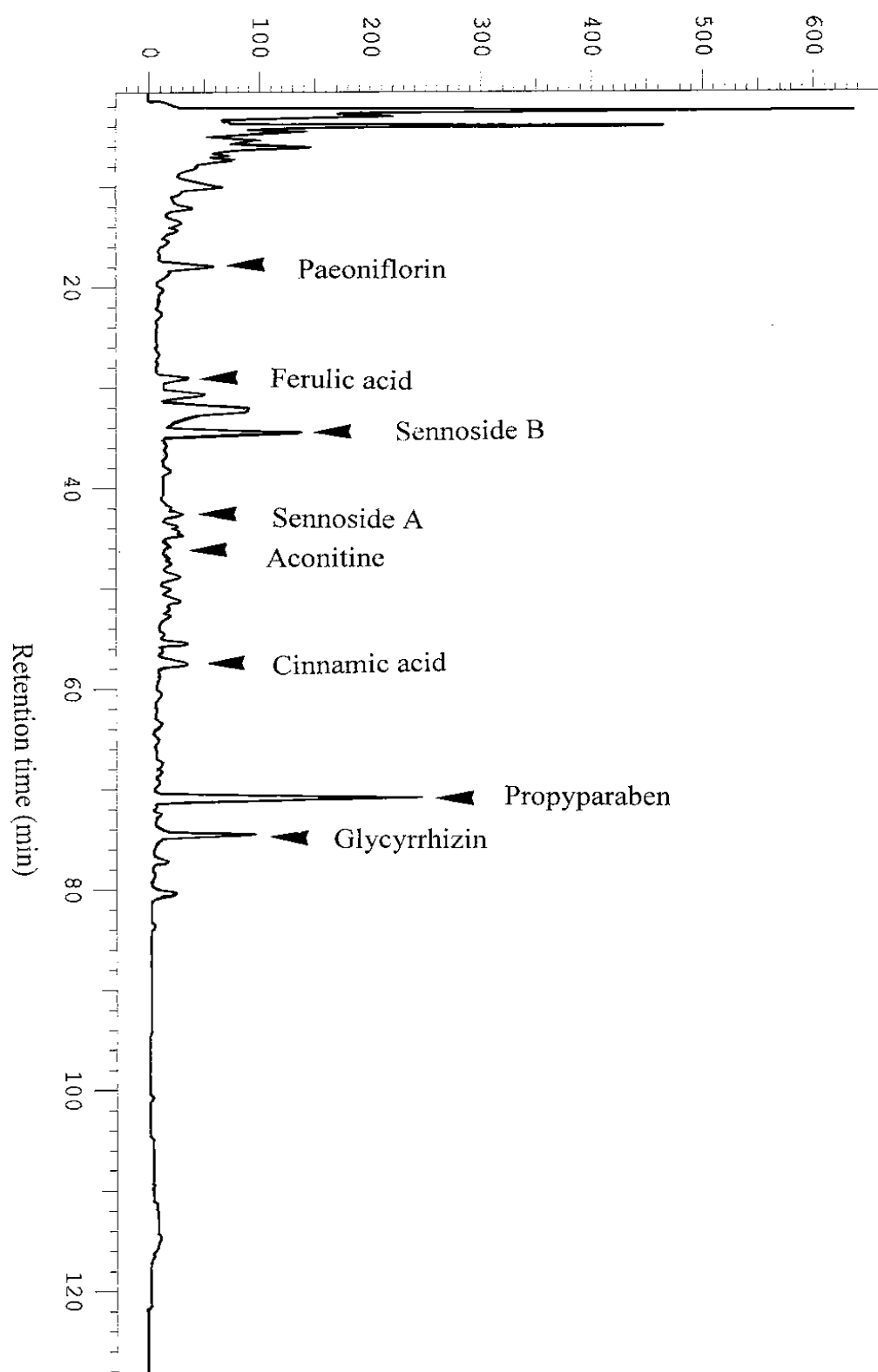
圖九、萬應膏麻油萃取 HPLC 層析圖譜



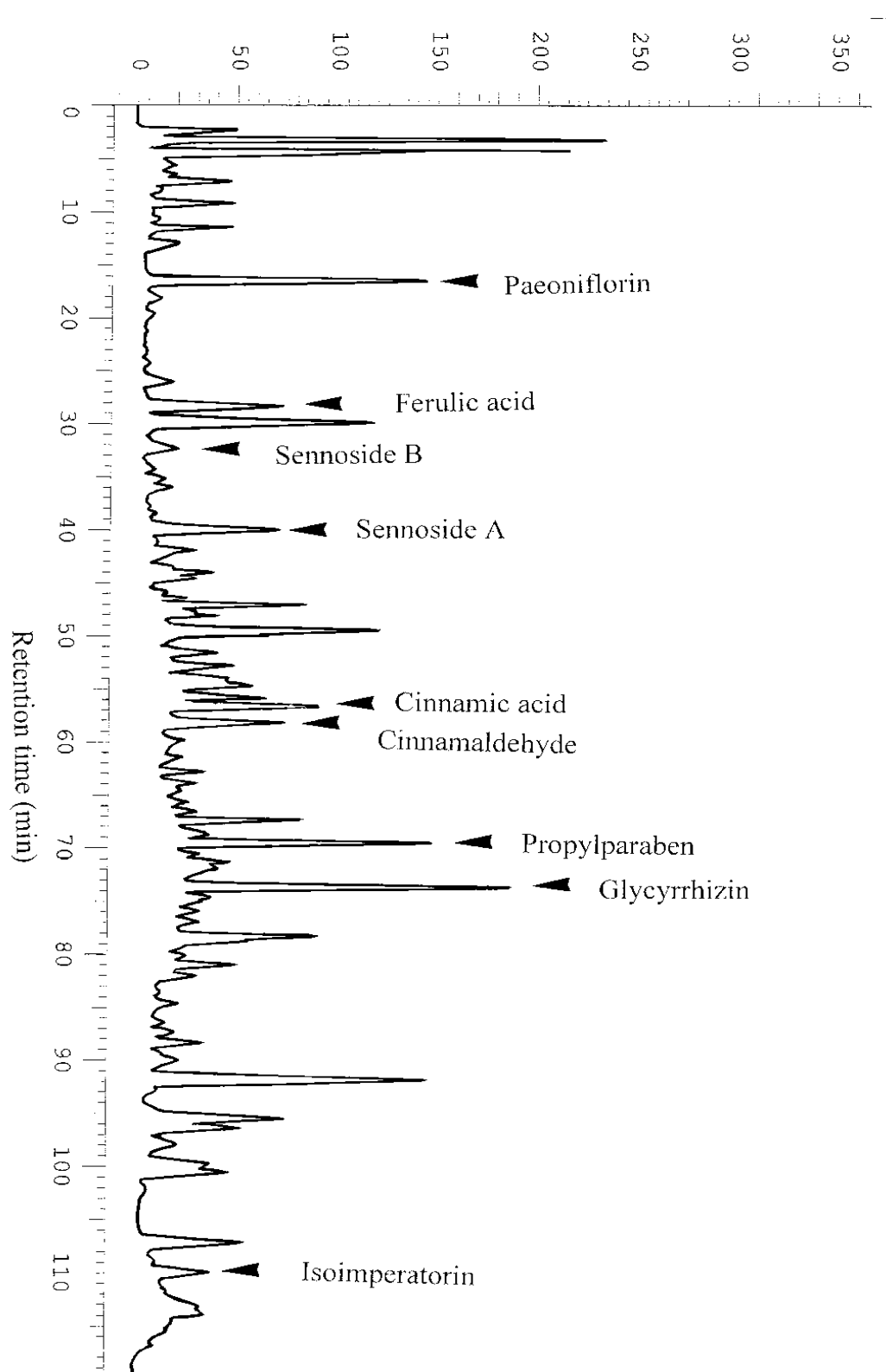
圖十、萬應膏酒精萃取 HPLC 層析圖譜



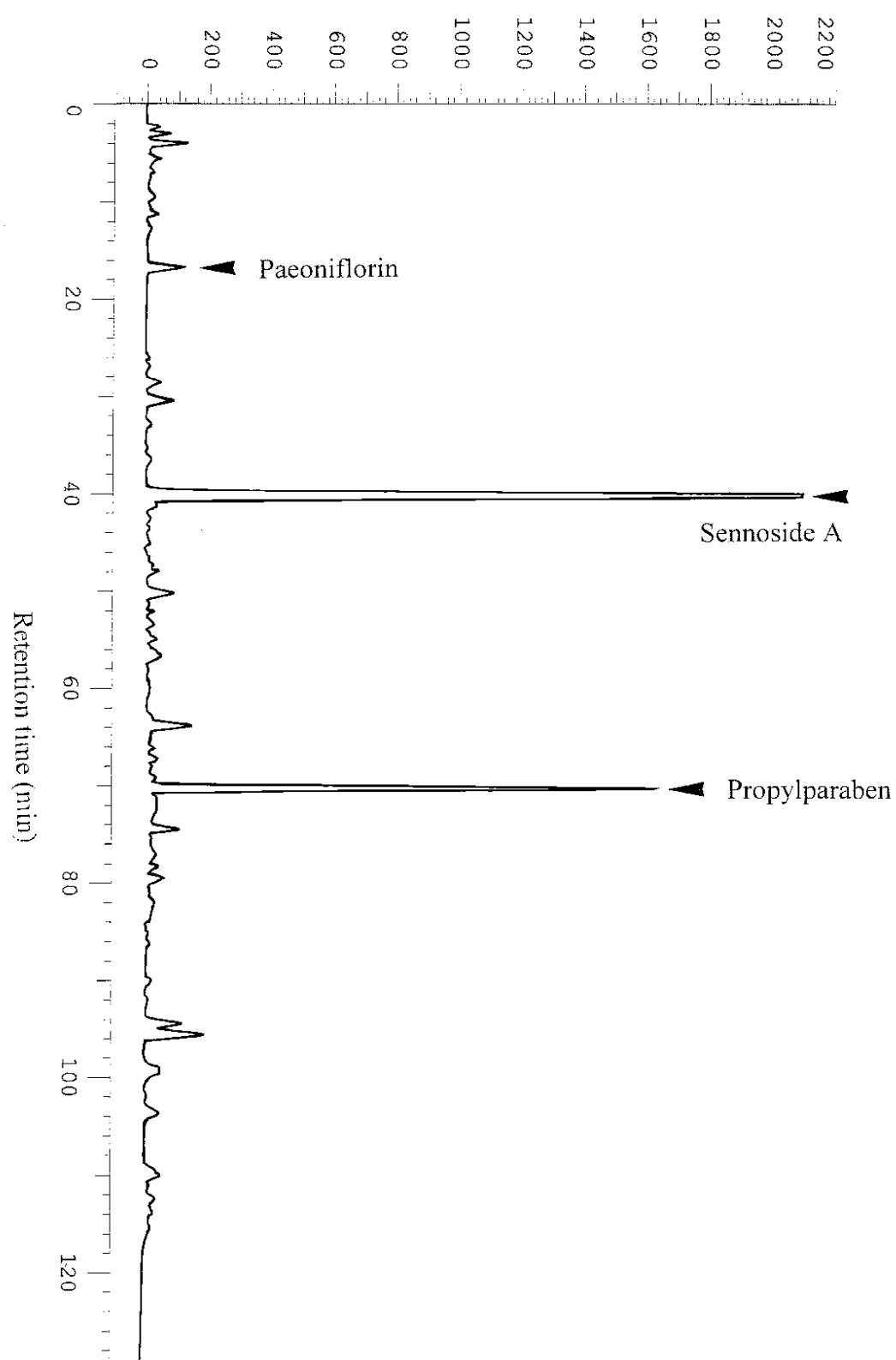
圖十一、萬應膏 50%酒精萃取 HPLC 層析圖譜



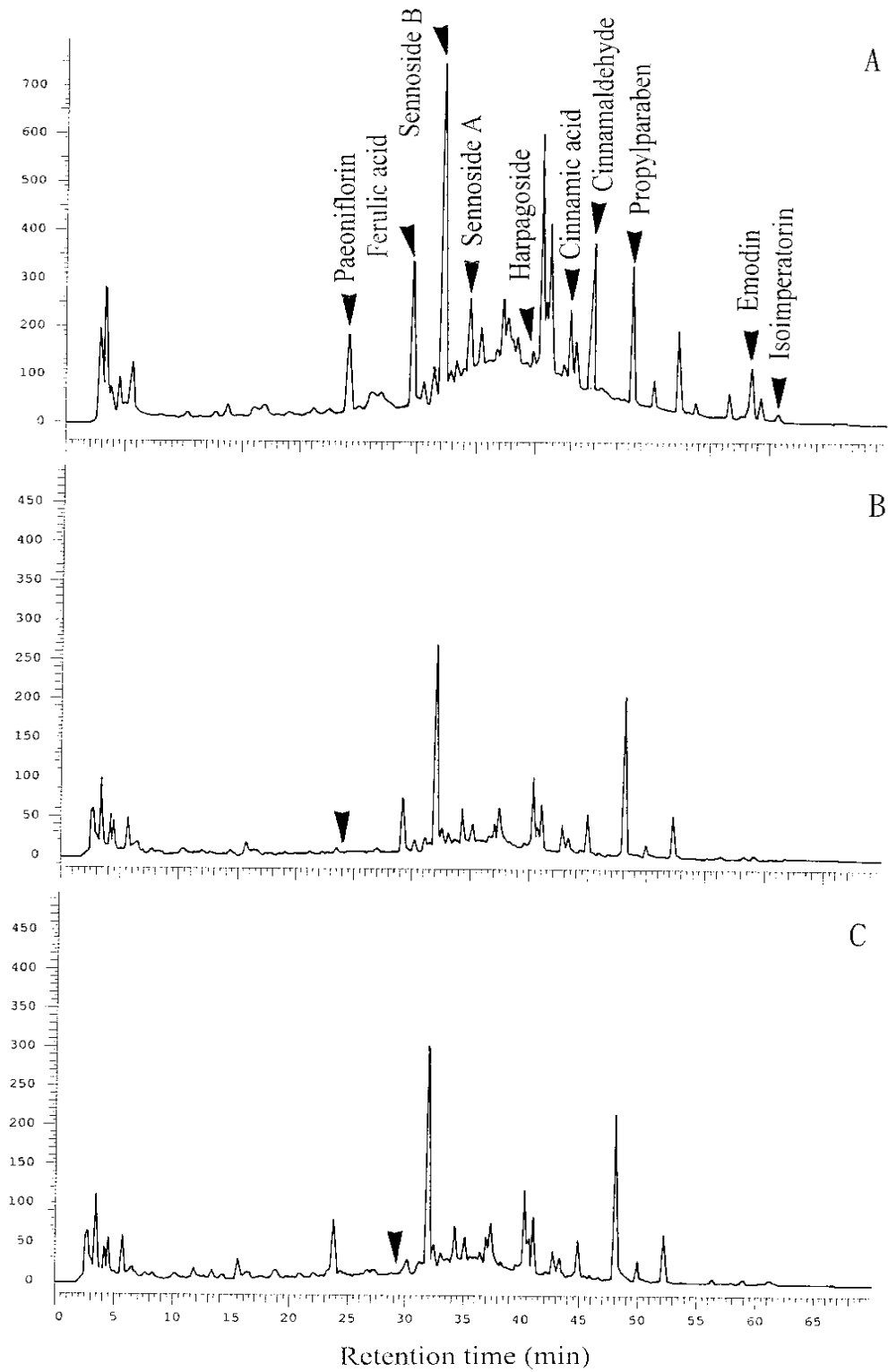
圖十二、萬應膏水萃取 HPLC 層析圖譜



圖十三、萬應膏油性貼布萃取 HPLC 層析圖譜

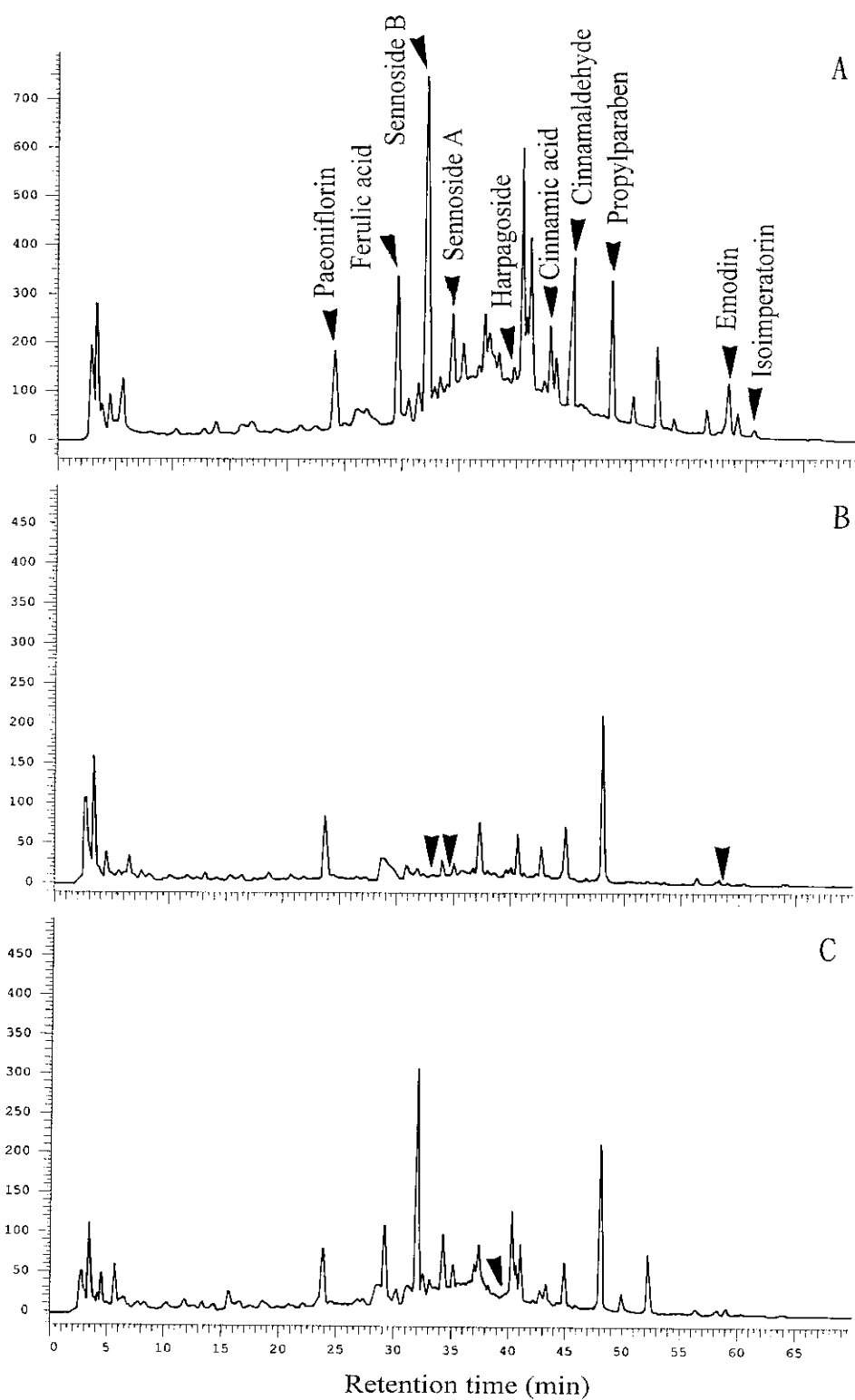


圖十四、萬應膏水性貼布萃取 HPLC 層析圖譜



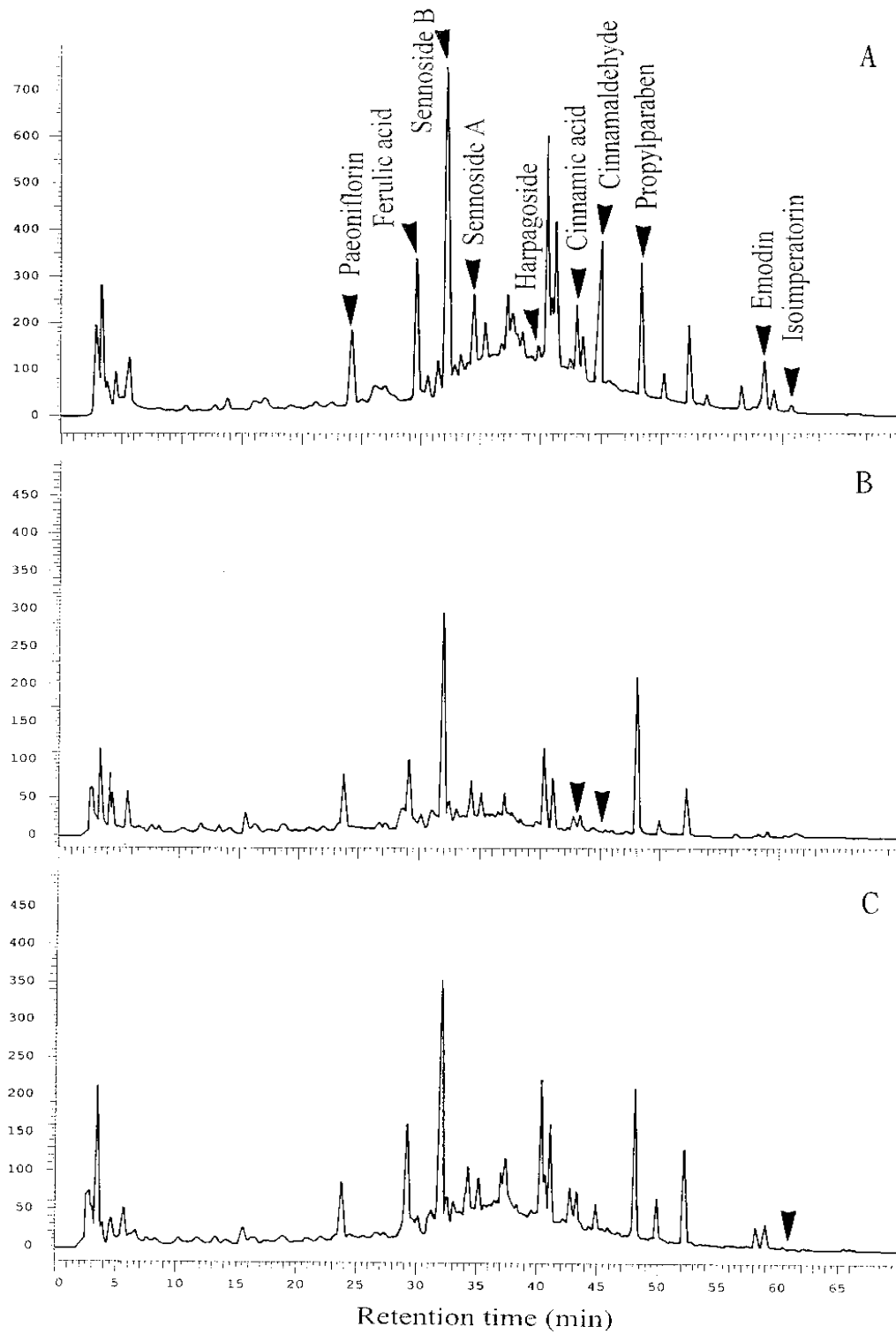
圖十五、太乙膏 HPLC 層析圖譜

- A. 標準方
- B. 標準方缺赤芍藥
- C. 標準方缺當歸



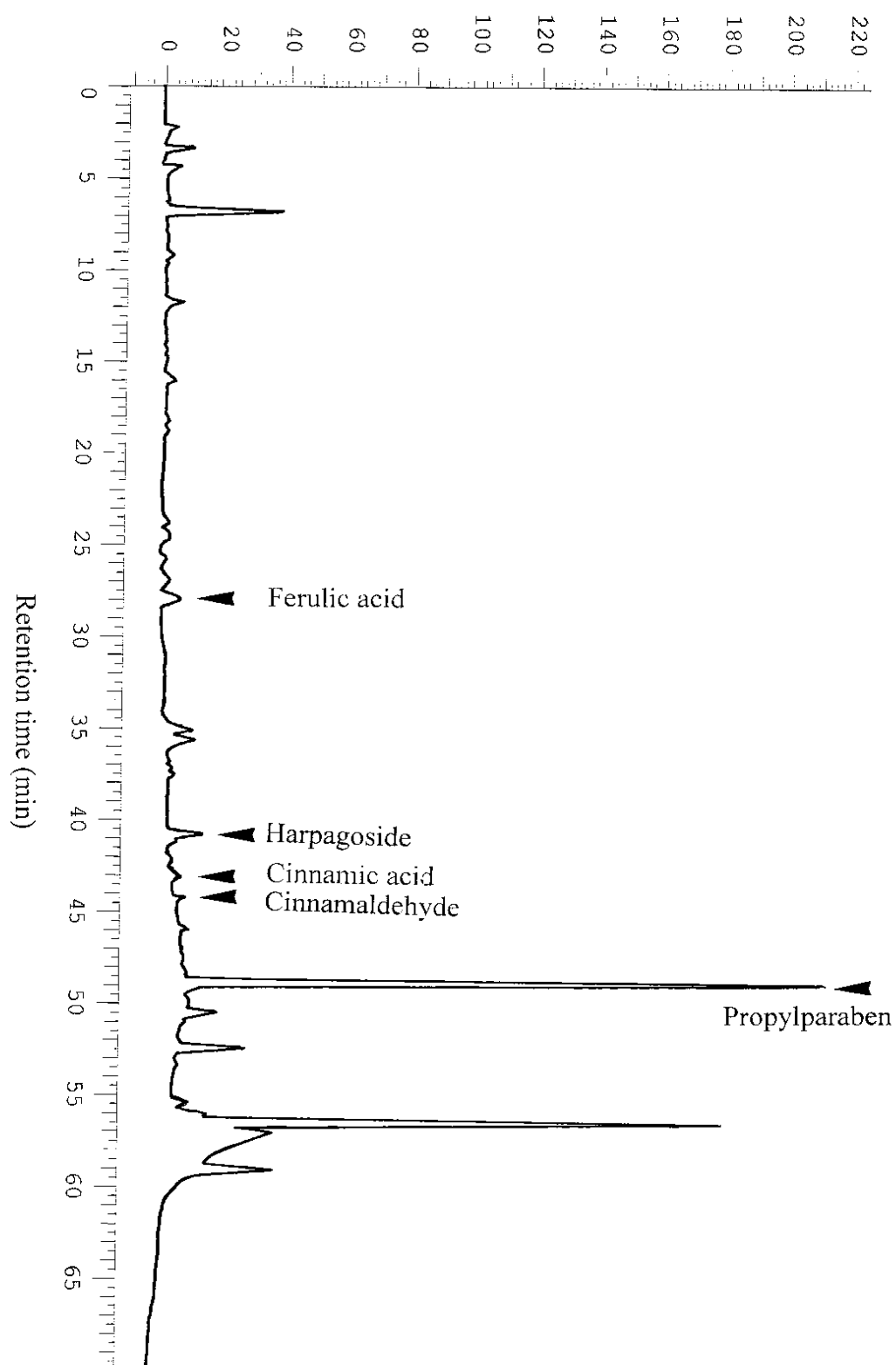
圖十六、太乙膏 HPLC 層析圖譜

- A. 標準方
- B. 標準方缺肉桂
- C. 標準方缺白芷

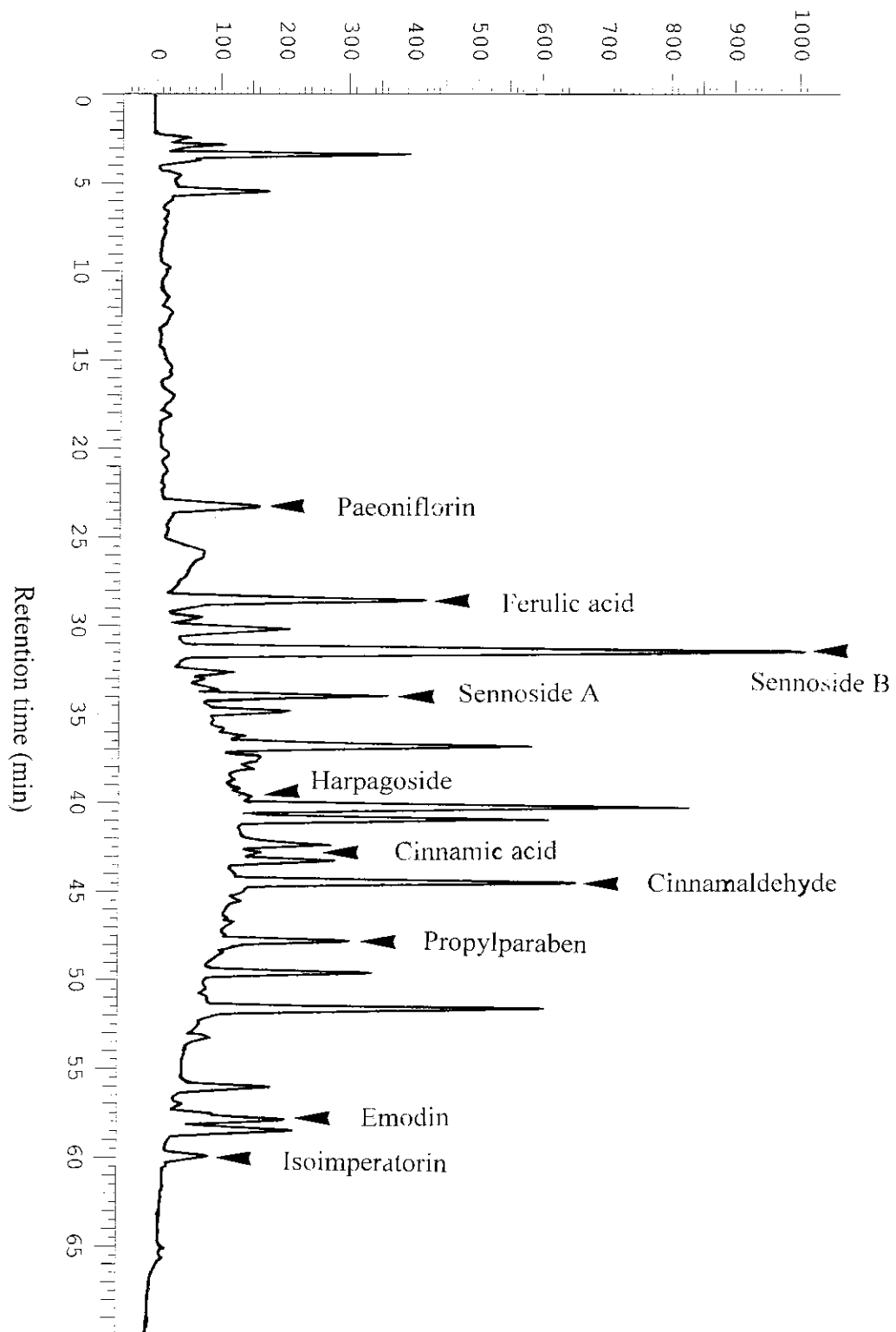


圖十七、太乙膏 HPLC 層析圖譜

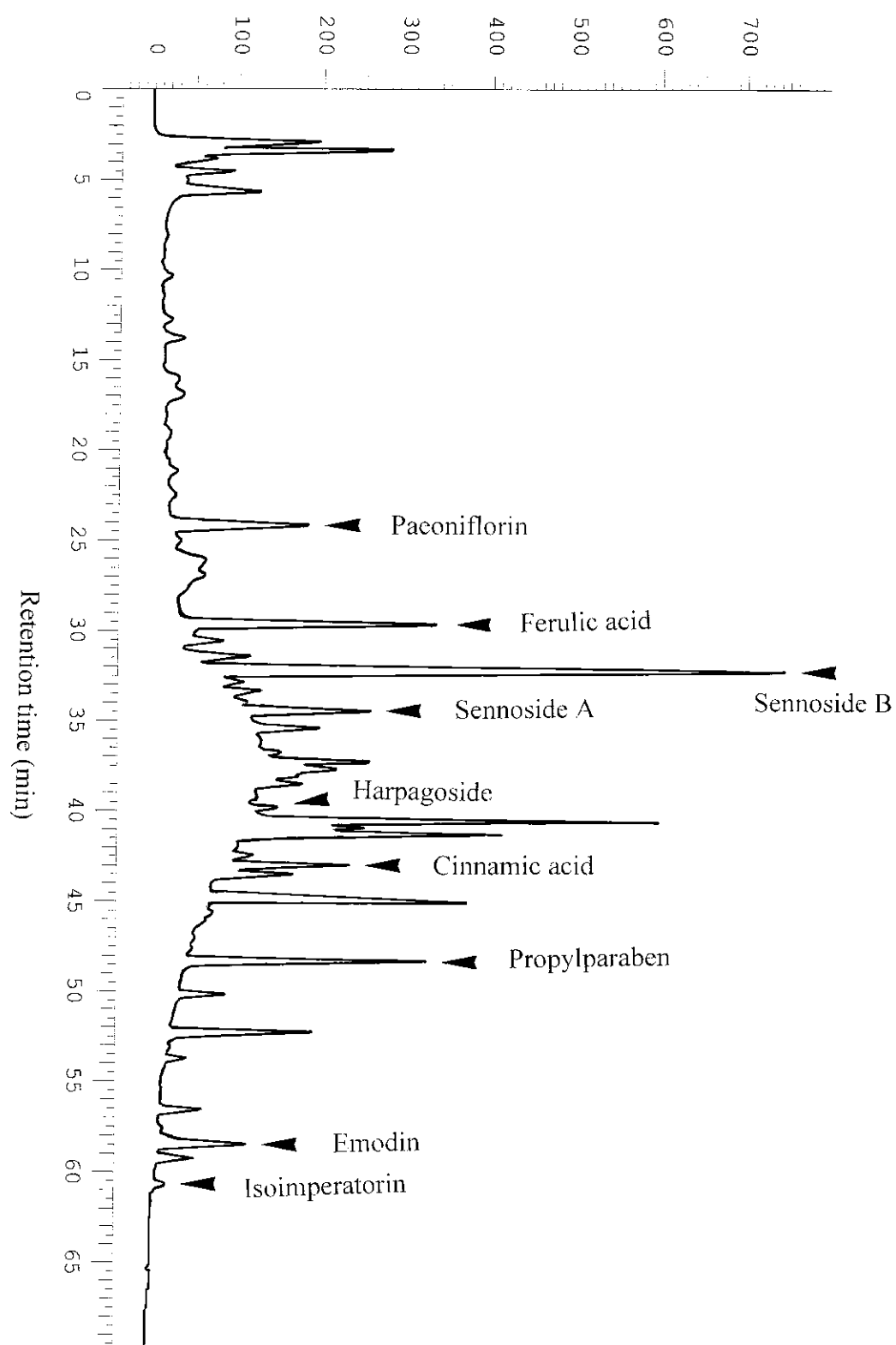
- A. 標準方
- B. 標準方缺大黃
- C. 標準方缺元蓼



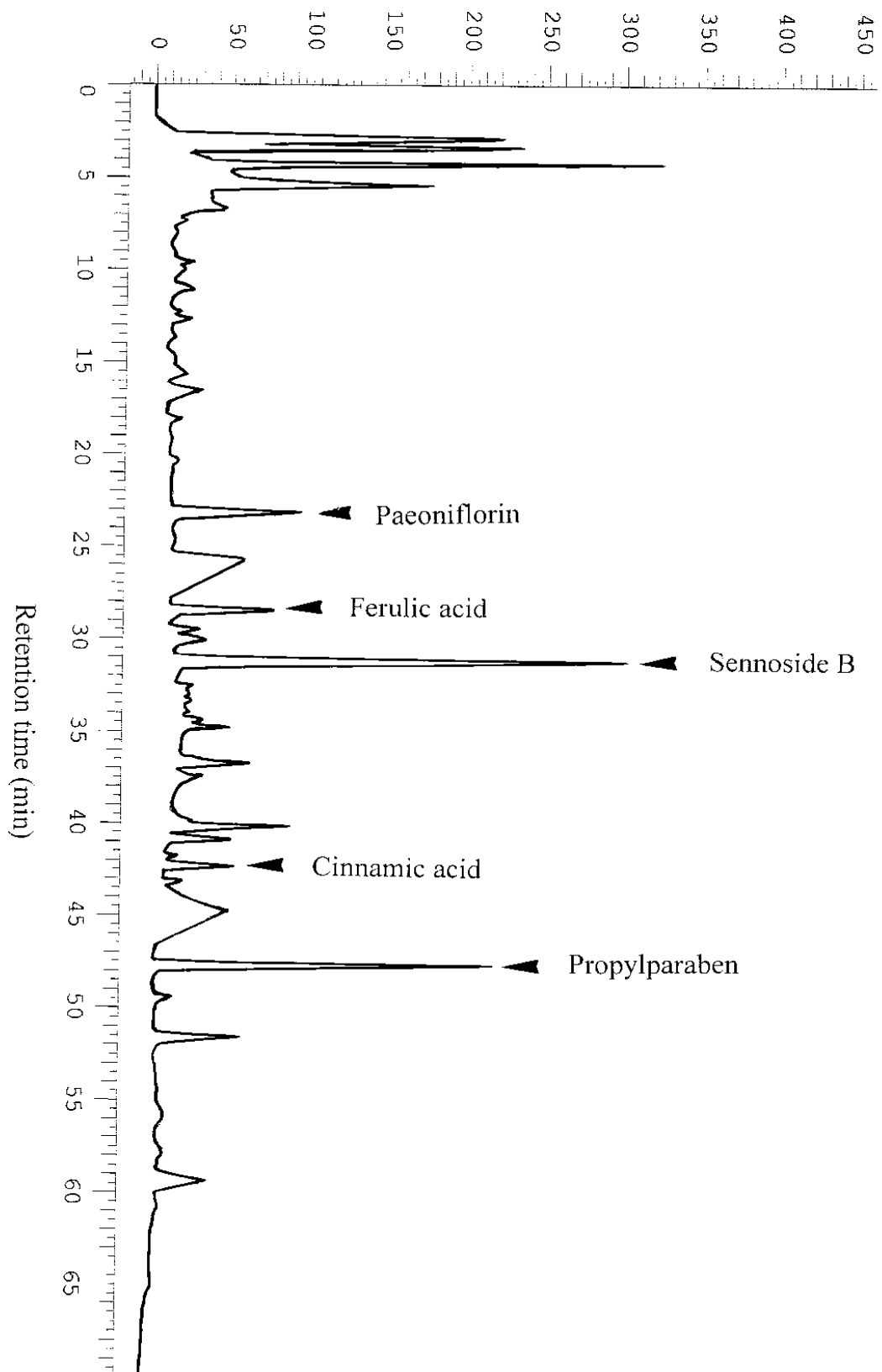
圖十八、太乙膏麻油萃取 HPLC 層析圖譜



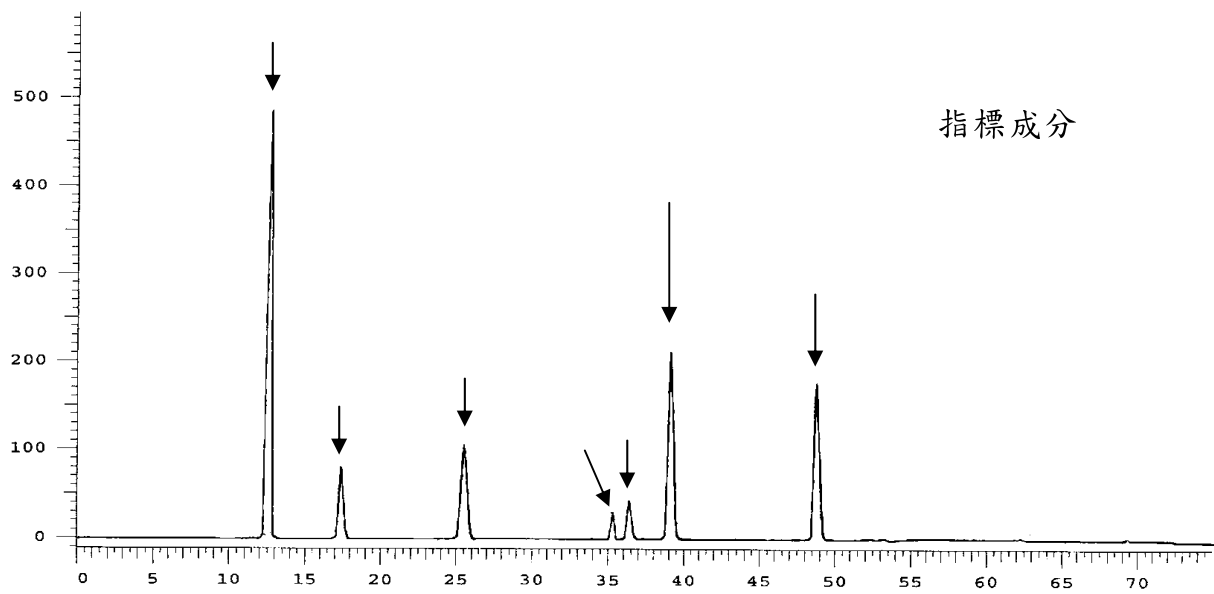
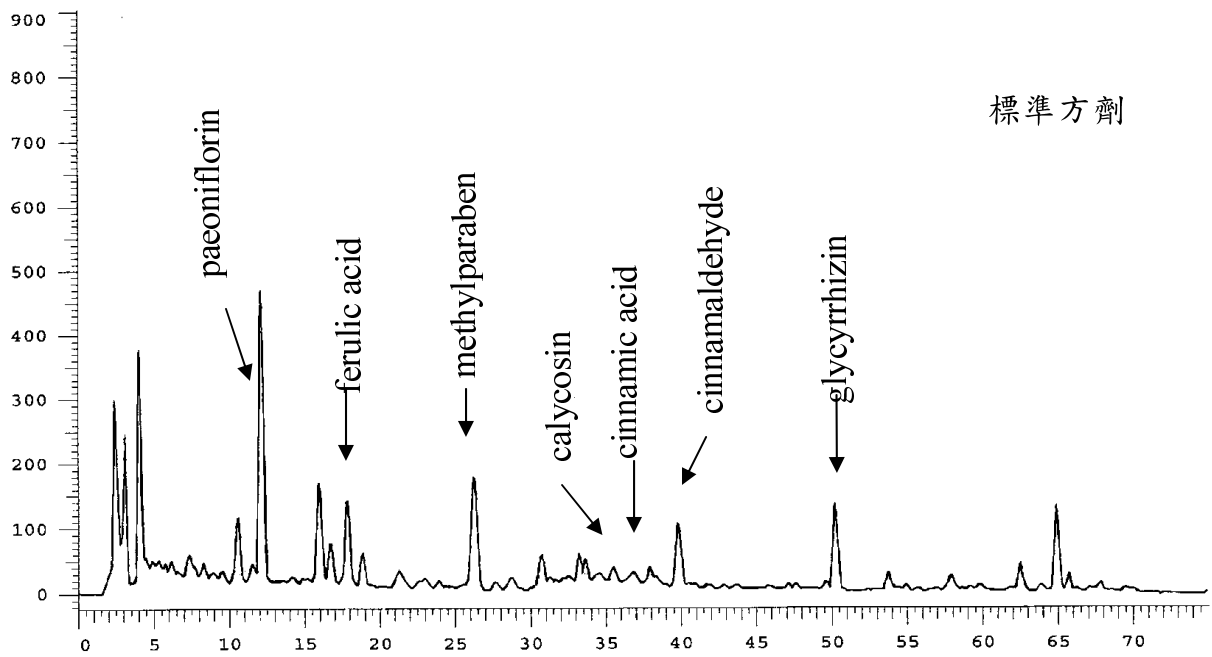
圖十九、太乙膏酒精萃取 HPLC 層析圖譜



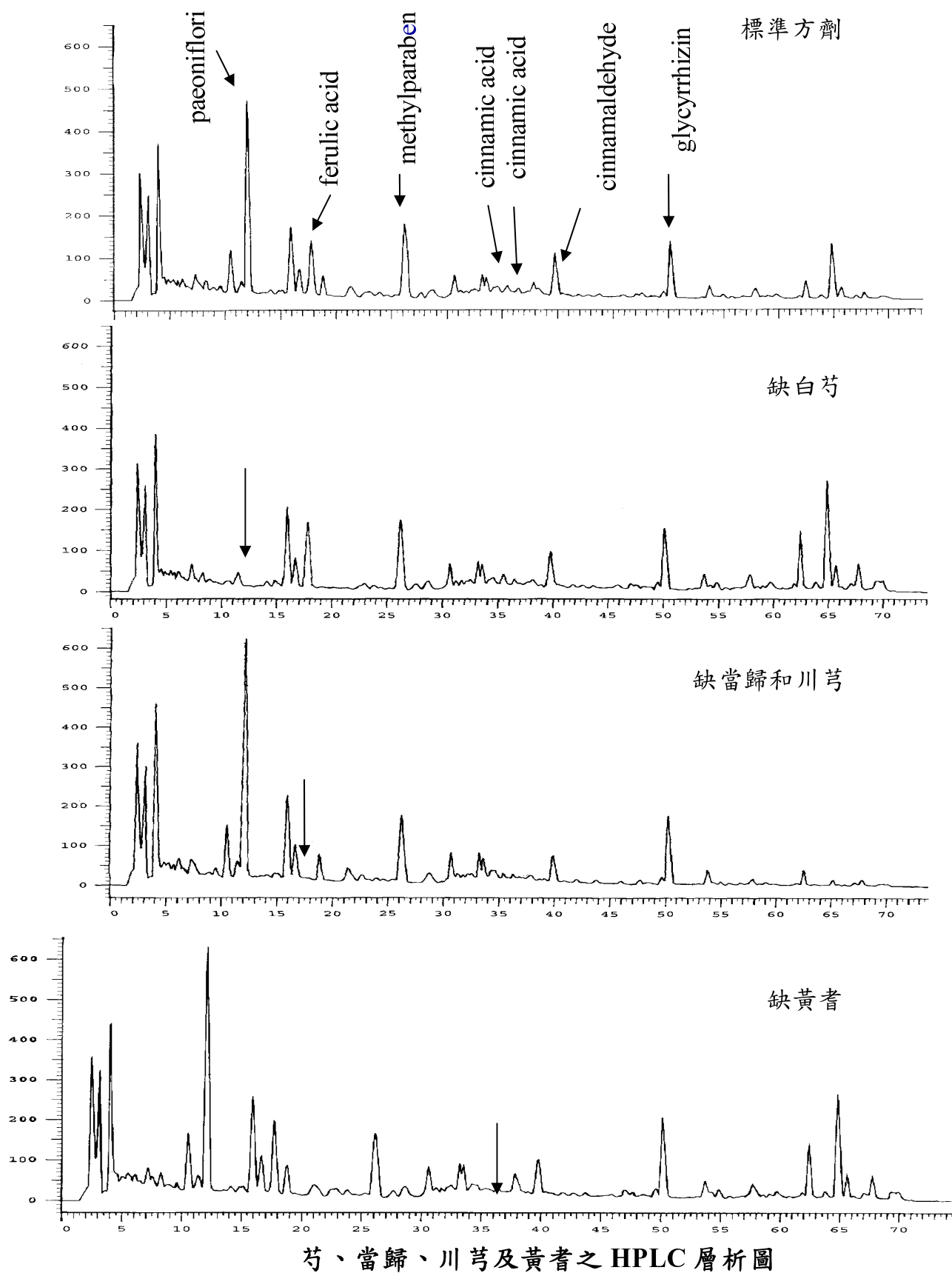
圖二十、太乙膏 50%酒精萃取 HPLC 層析圖譜

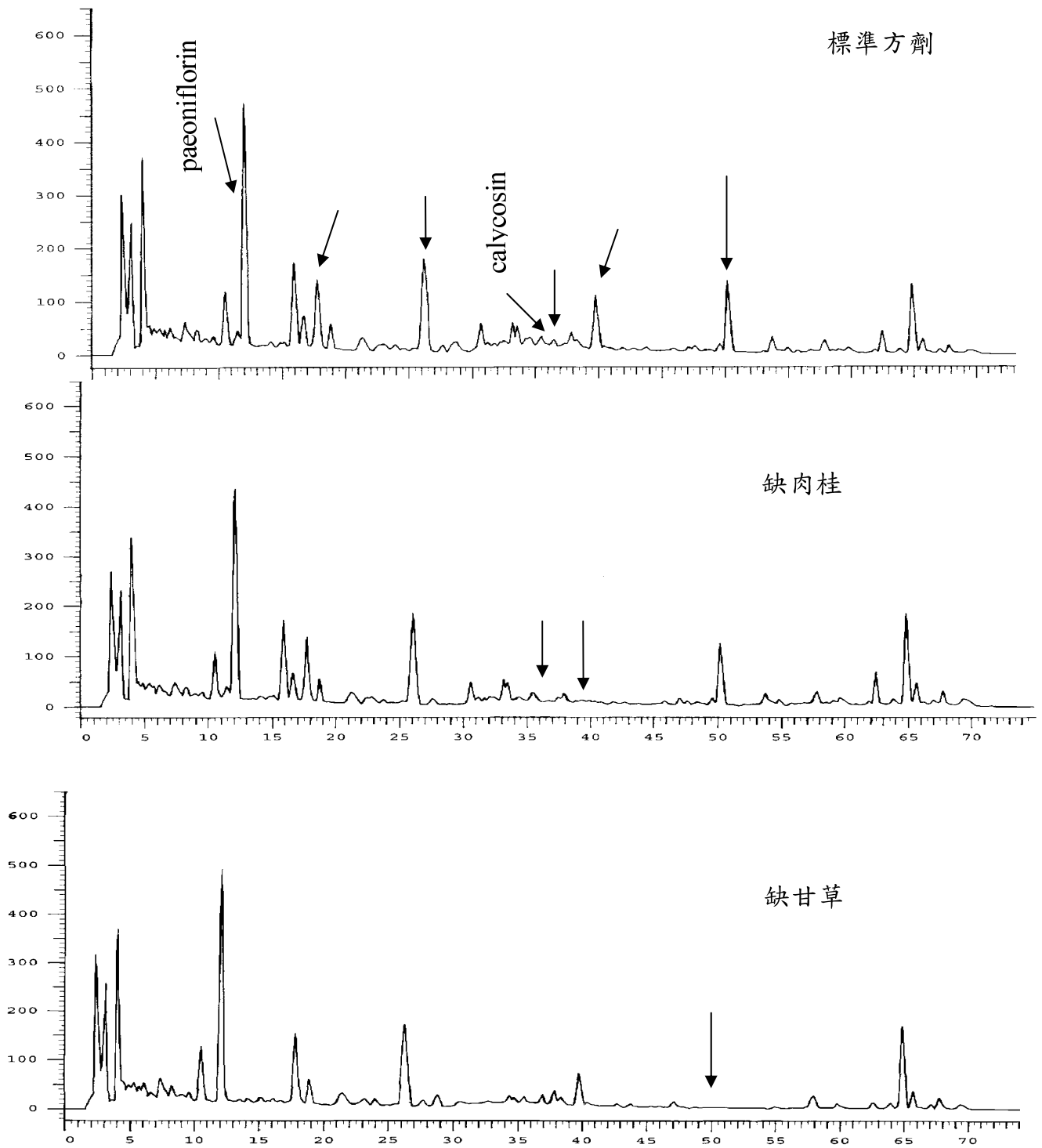


圖二十一、太乙膏水萃取 HPLC 層析圖譜

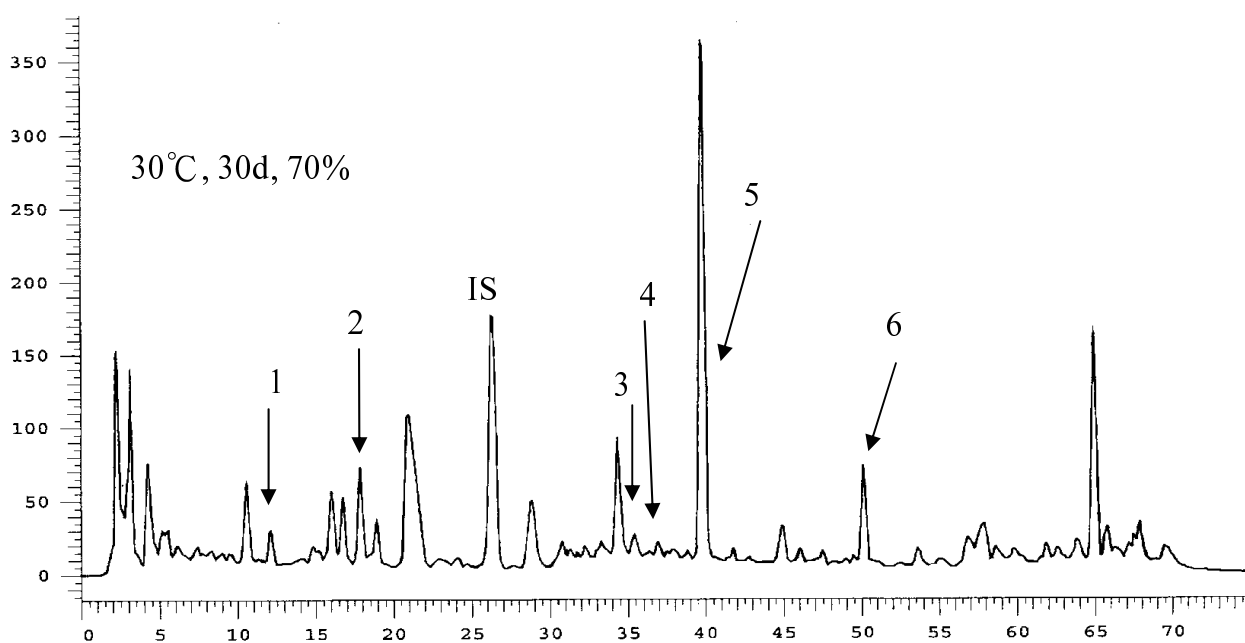
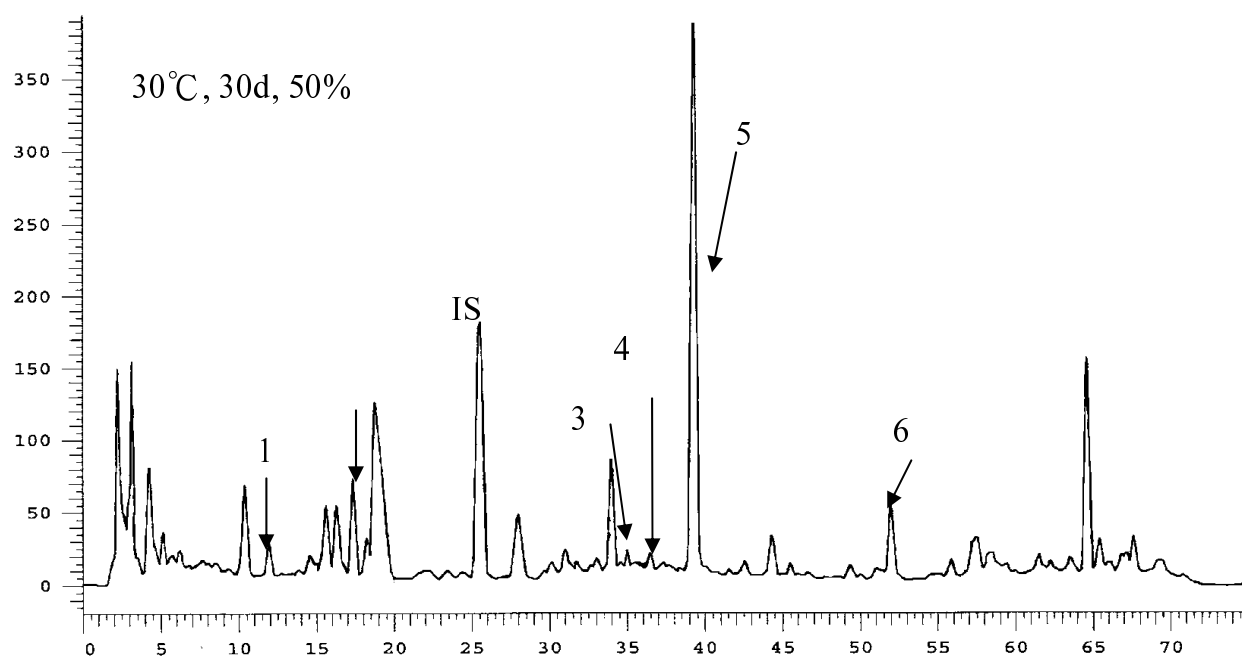


圖二二、十全大補藥酒標準方劑與各指標成分之 HPLC 層析圖



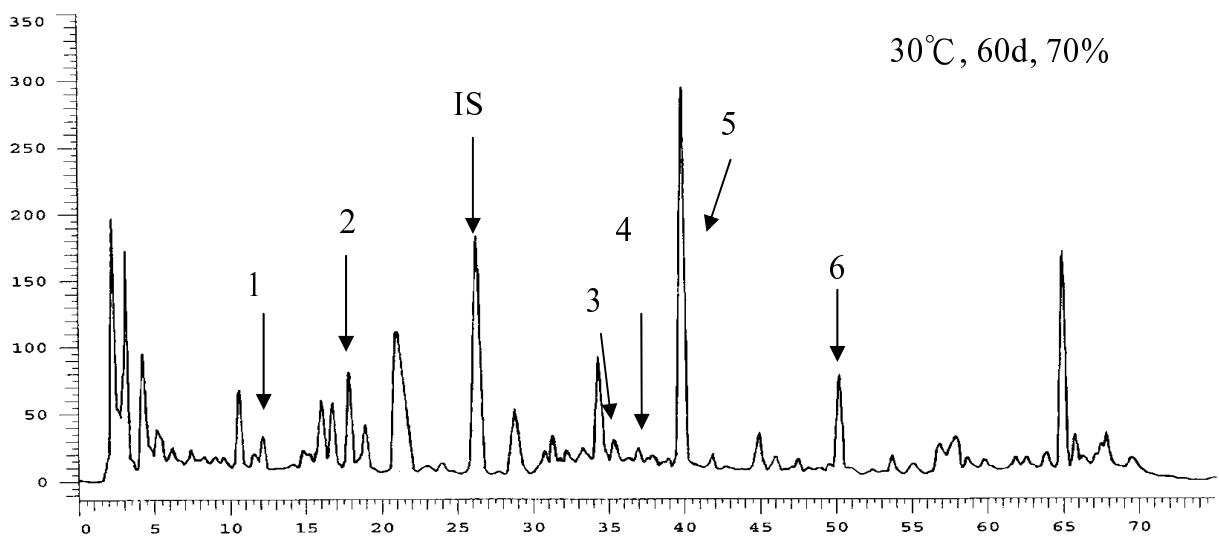
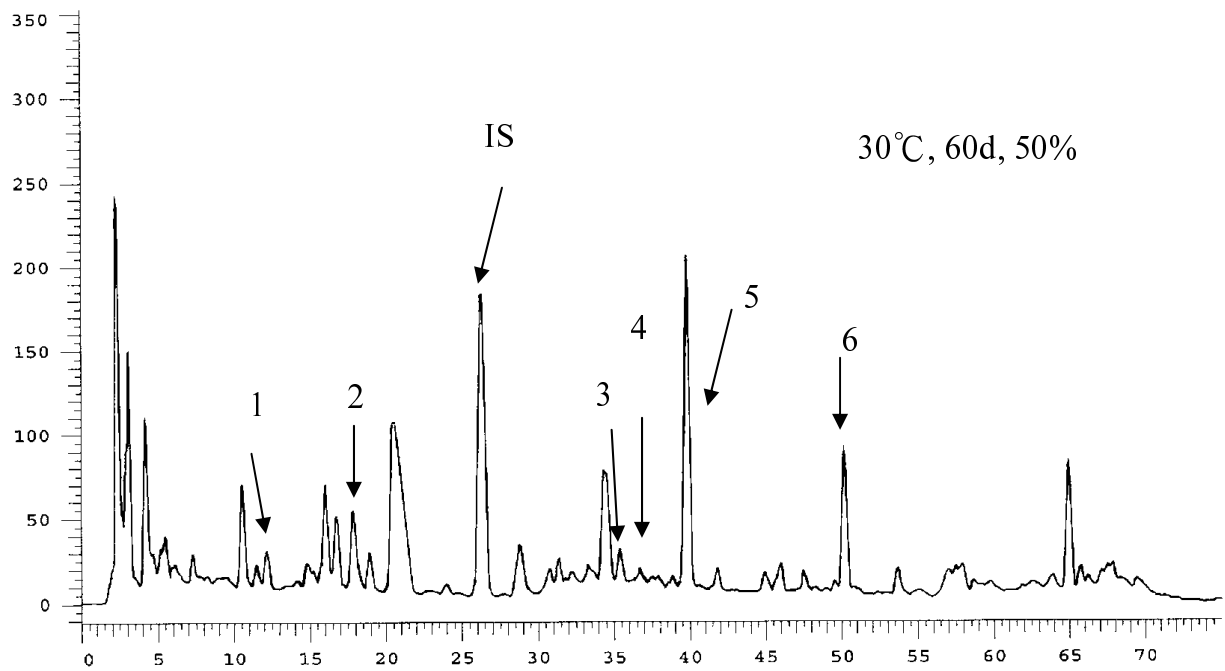


圖二四、十全大補藥酒標準方劑與標準方劑中缺肉桂
及甘草之 HPLC 層析圖



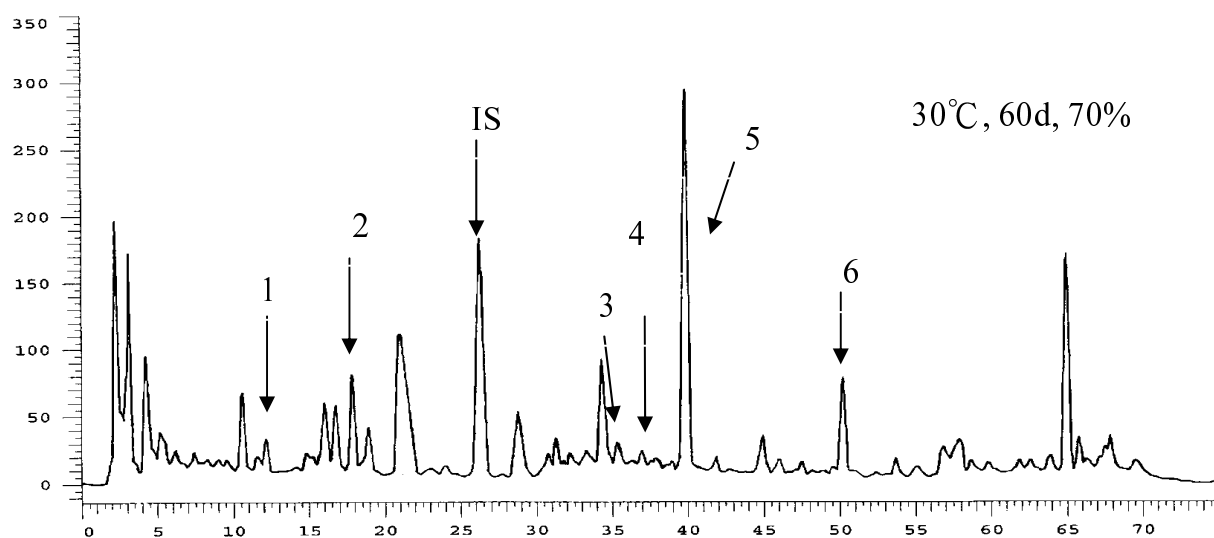
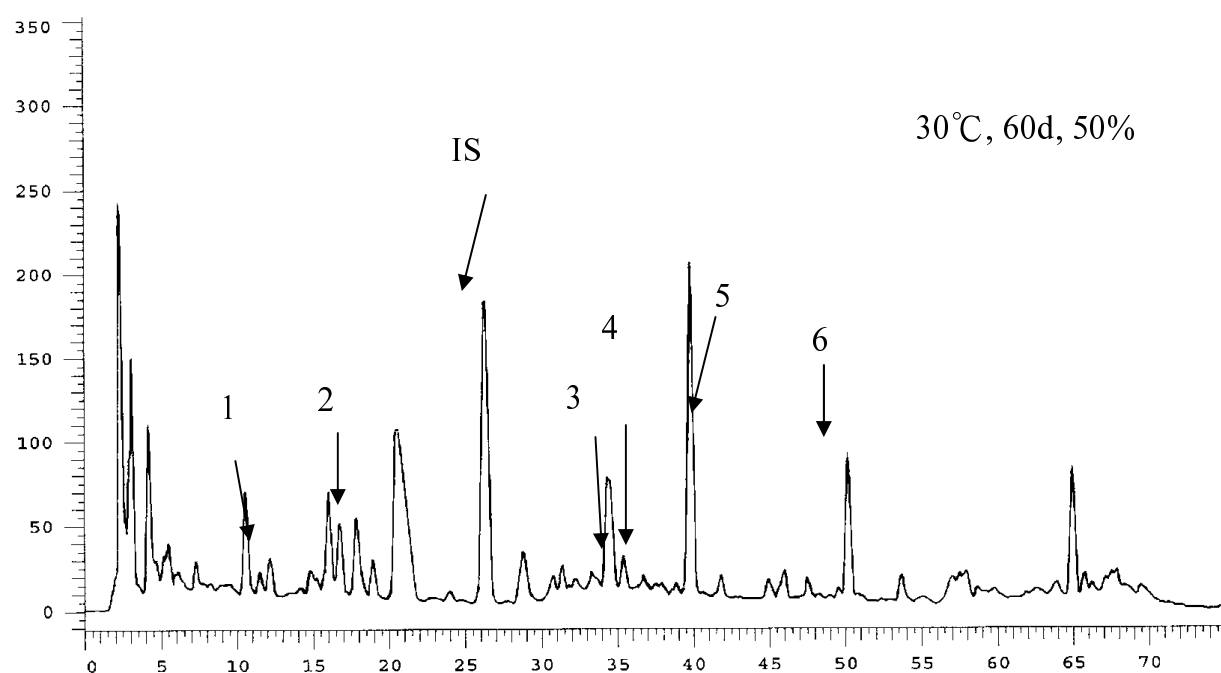
1: paeoniflorin; 2: ferulic acid; 3: calycosin; 4: cinnamic acid;
5: cinnamaldehyde; 6: glycyrrhizin

圖二五、嘉義大學十全大補藥酒製品之 HPLC 層析圖



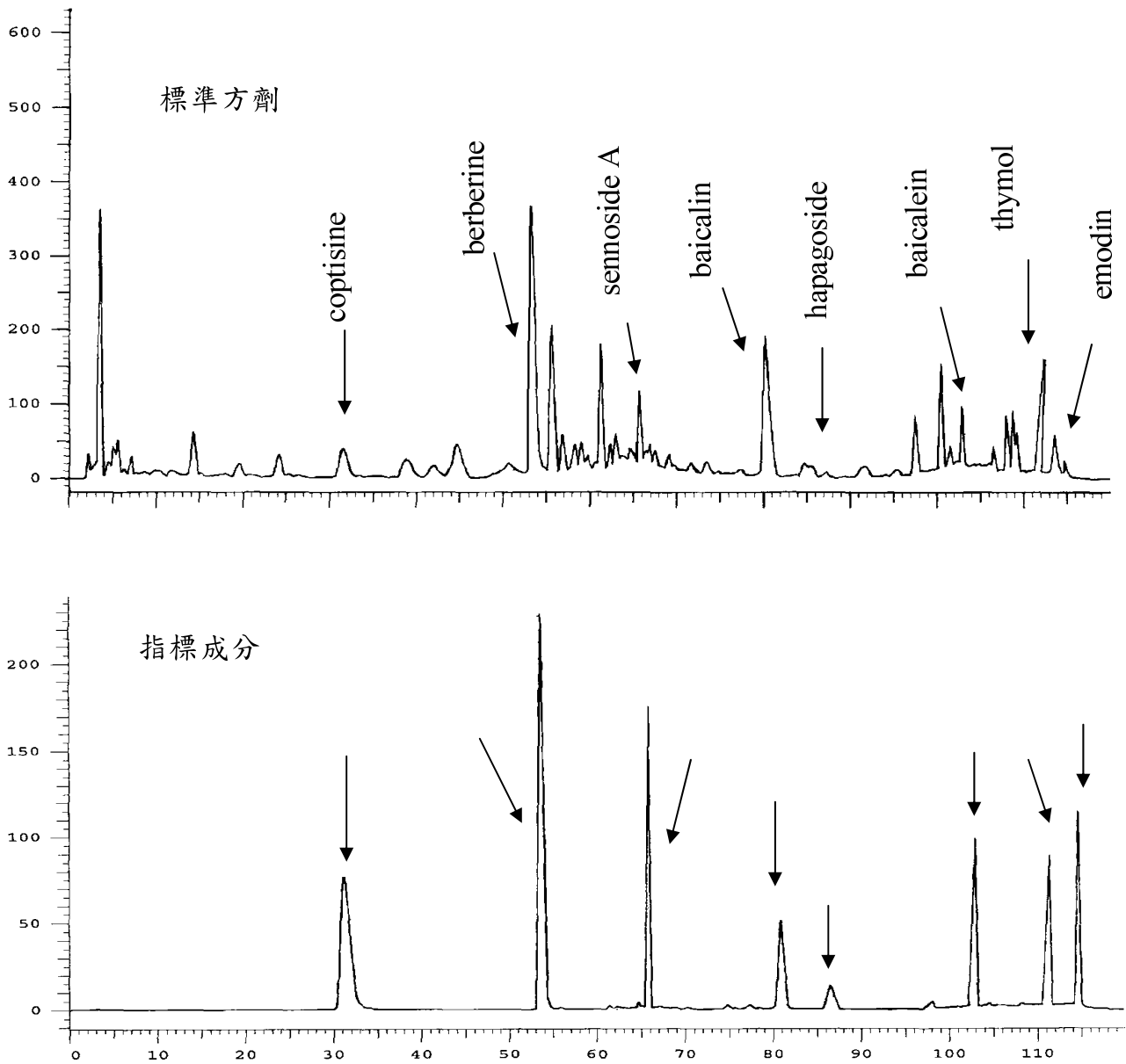
1: paeoniflorin; 2: ferulic acid; 3: calycosin; 4: cinnamic acid;
5: cinnamaldehyde; 6: glycyrrhizin

圖二六、嘉義大學十全大補藥酒製品之 HPLC 層析圖

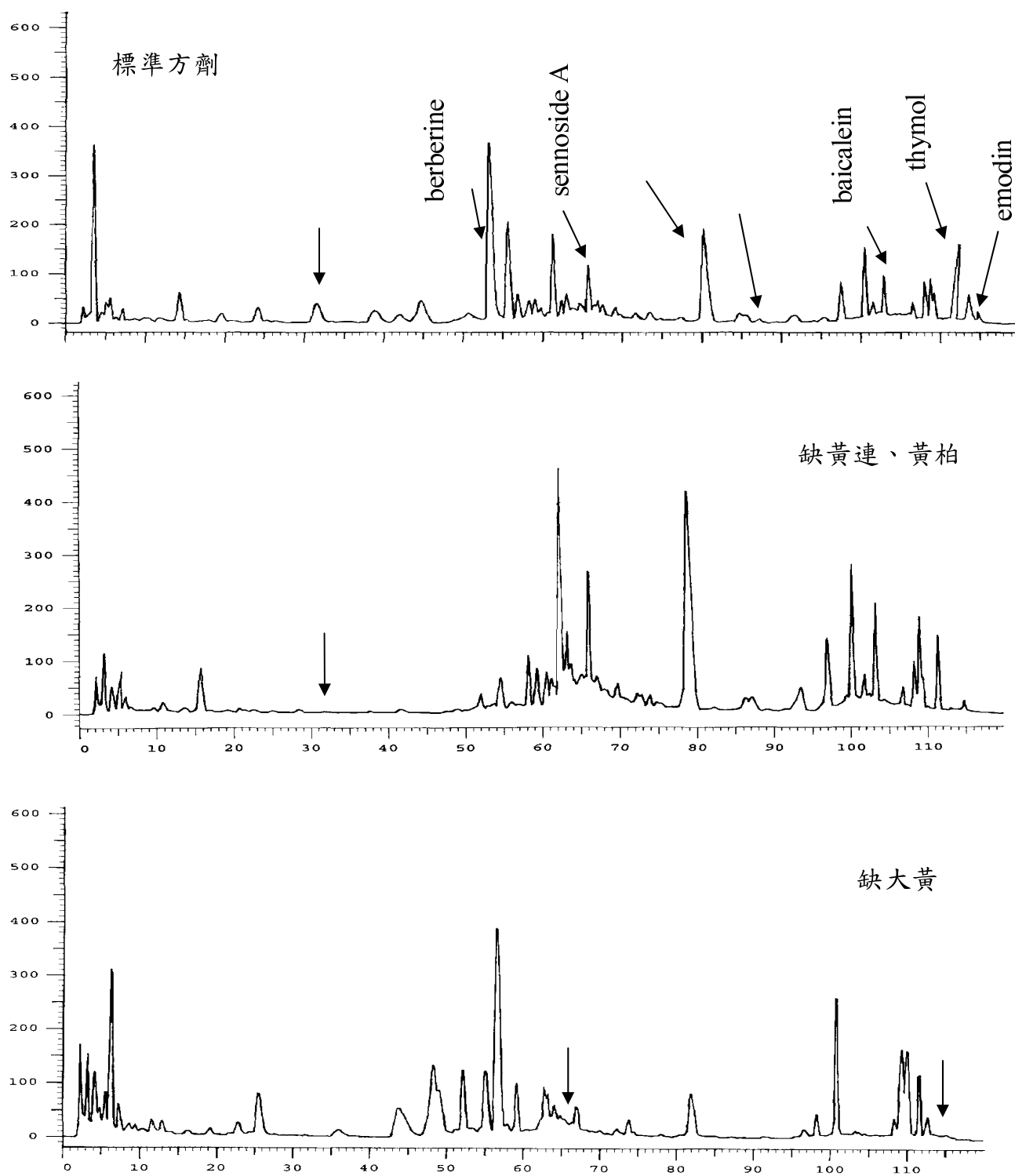


1: paeoniflorin; 2: ferulic acid; 3: calycosin; 4: cinnamic acid;
5: cinnamaldehyde; 6: glycyrrhizin

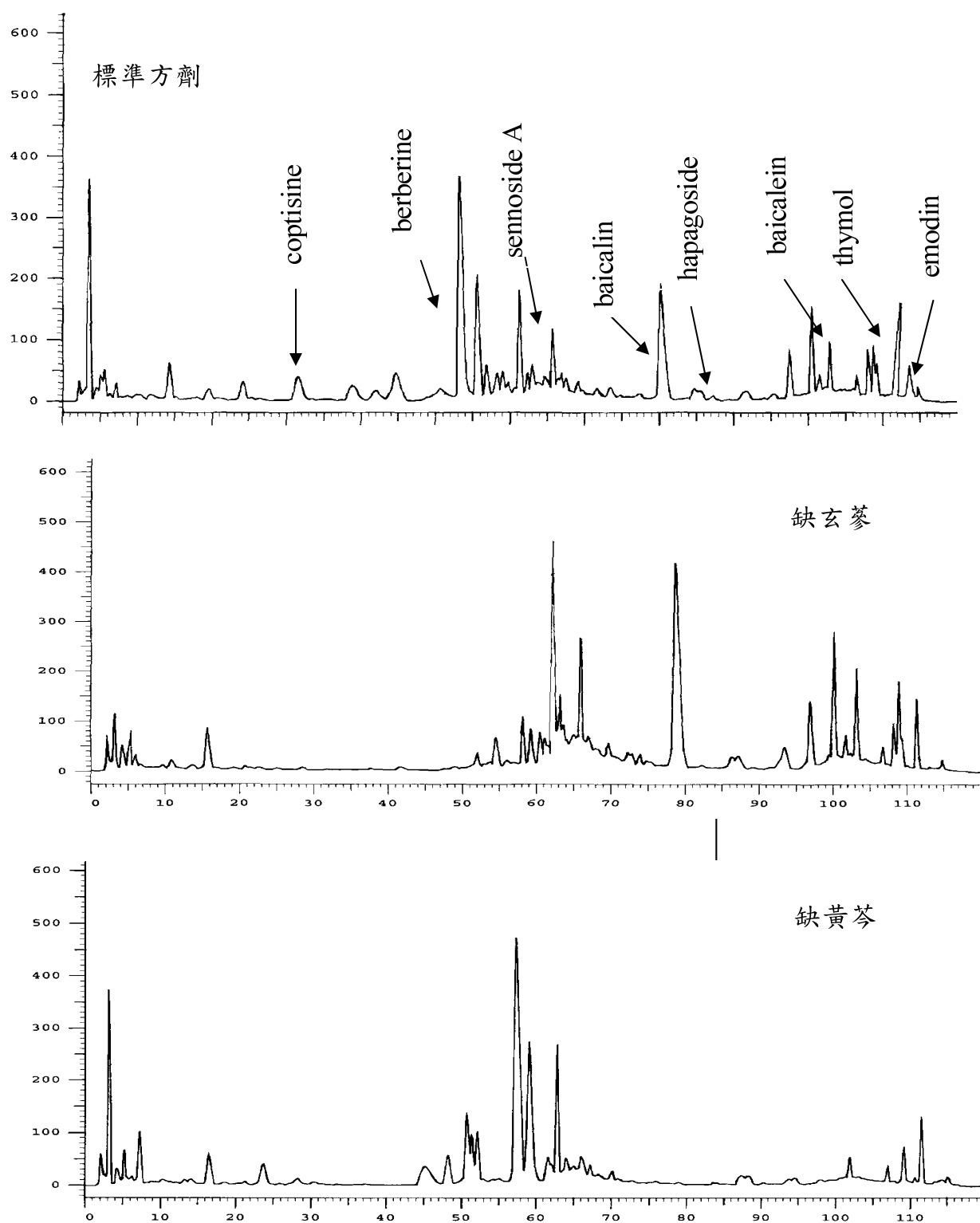
圖二七、嘉義大學十全大補藥酒製品之 HPLC 層析圖



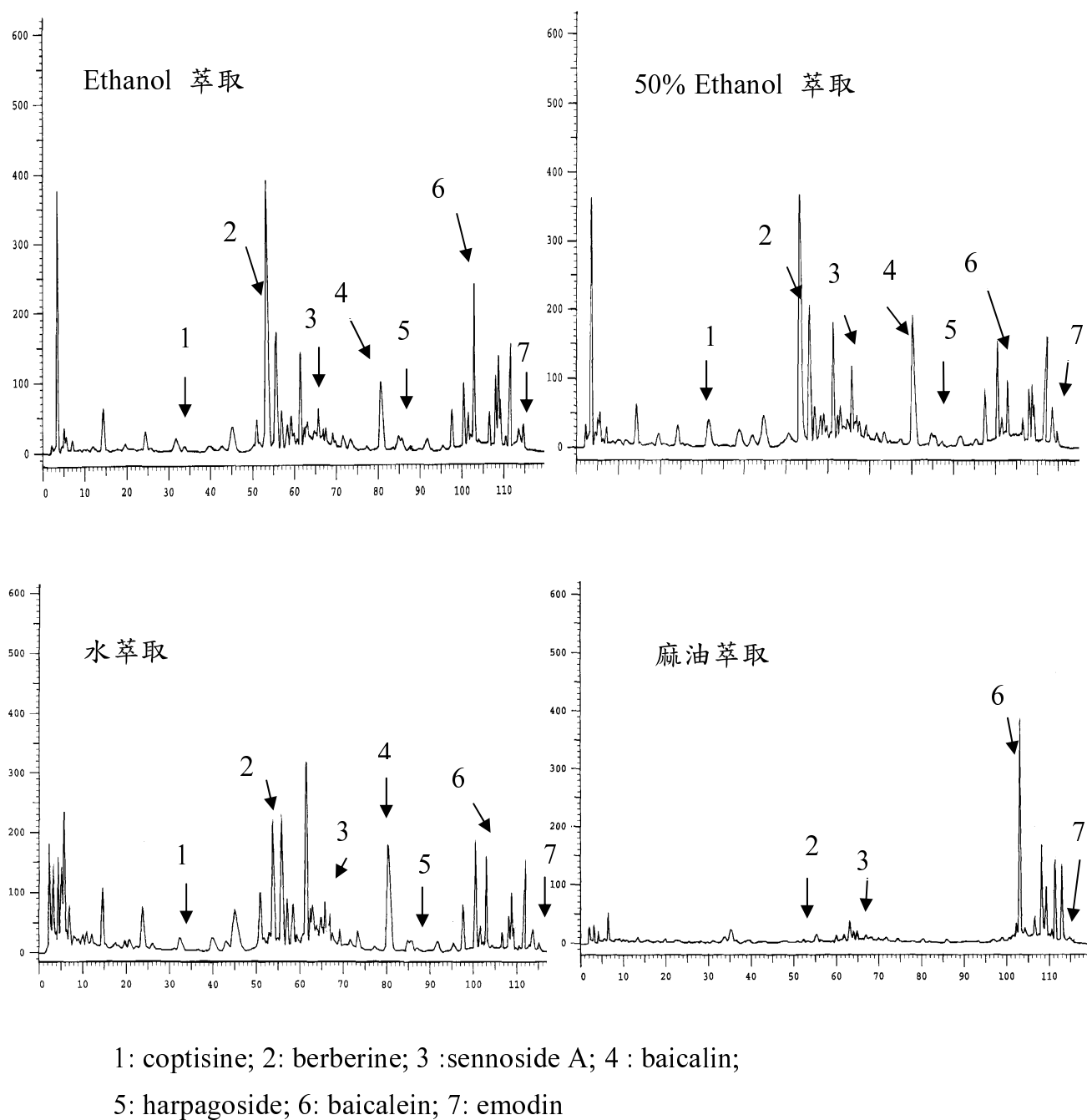
圖二八、綠云膏標準方劑與各指標成分之 HPLC 層析圖



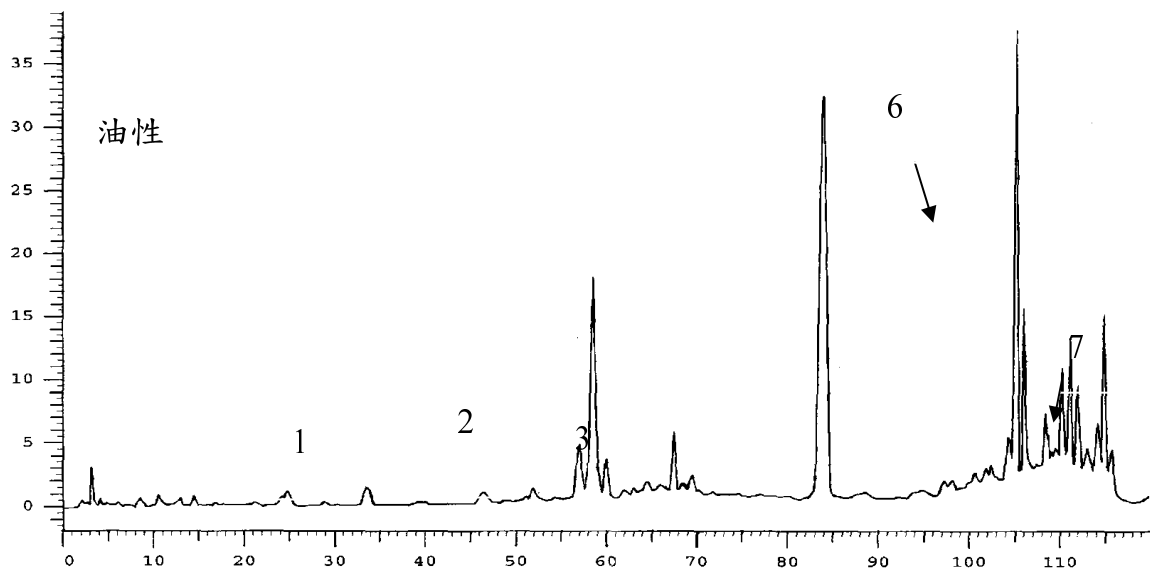
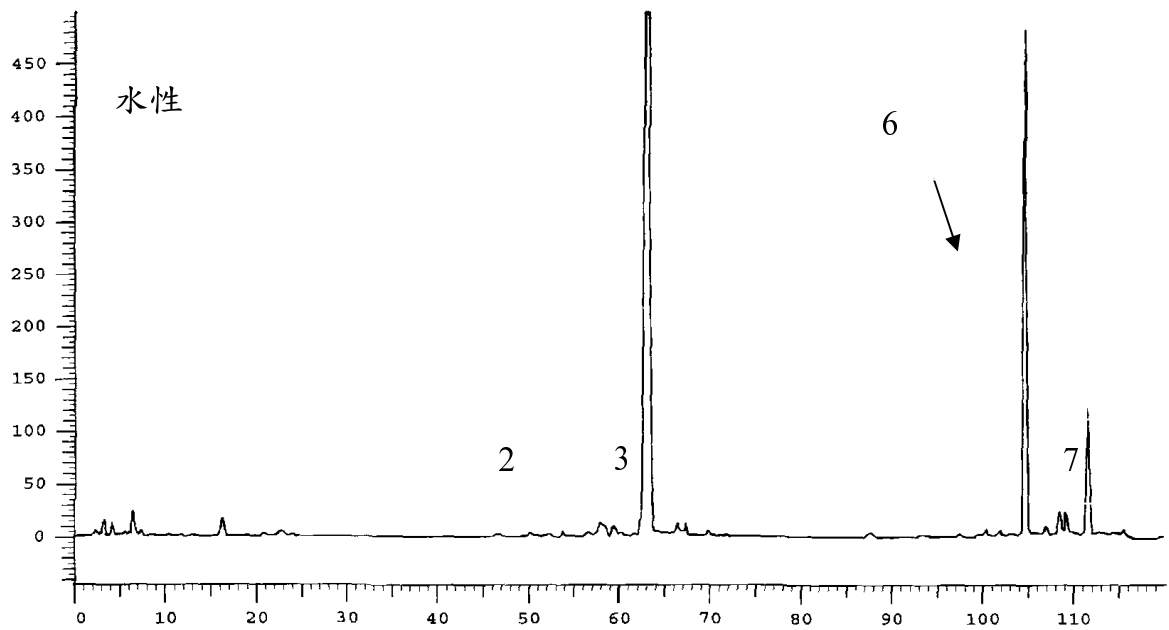
圖二九、綠云膏標準方劑與標準方劑中缺黃連、
黃柏及大黃之 HPLC 層析圖



圖三十、綠云膏標準方劑與標準方劑中缺玄蔘及黃芩之 HPLC 層析圖

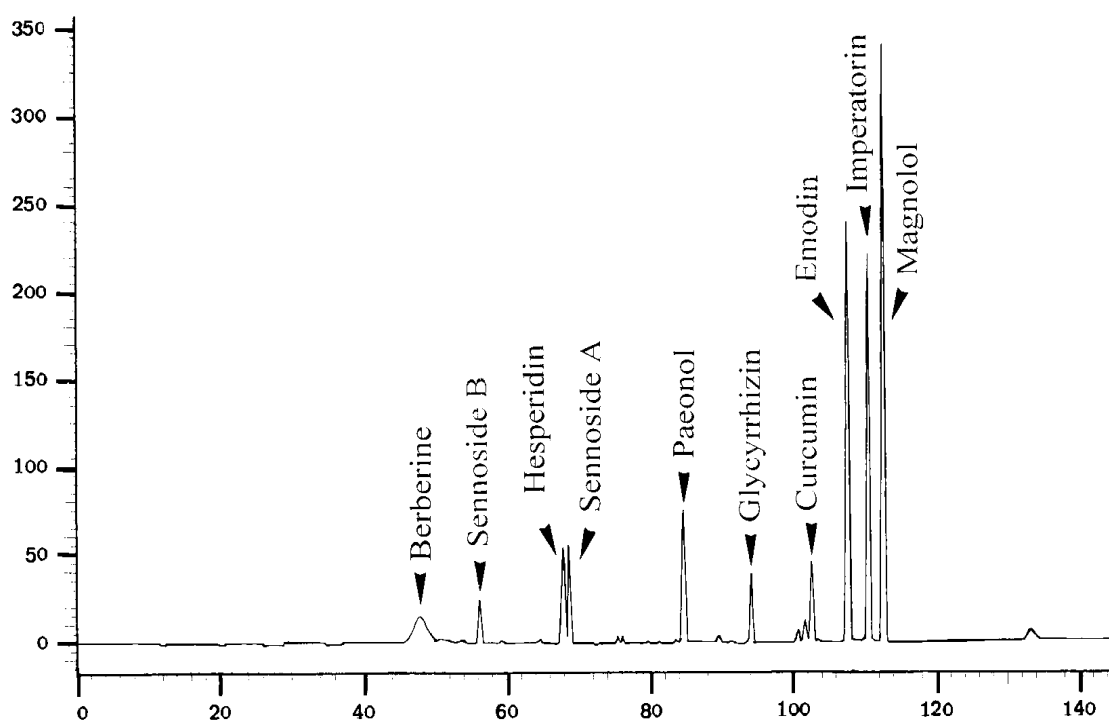
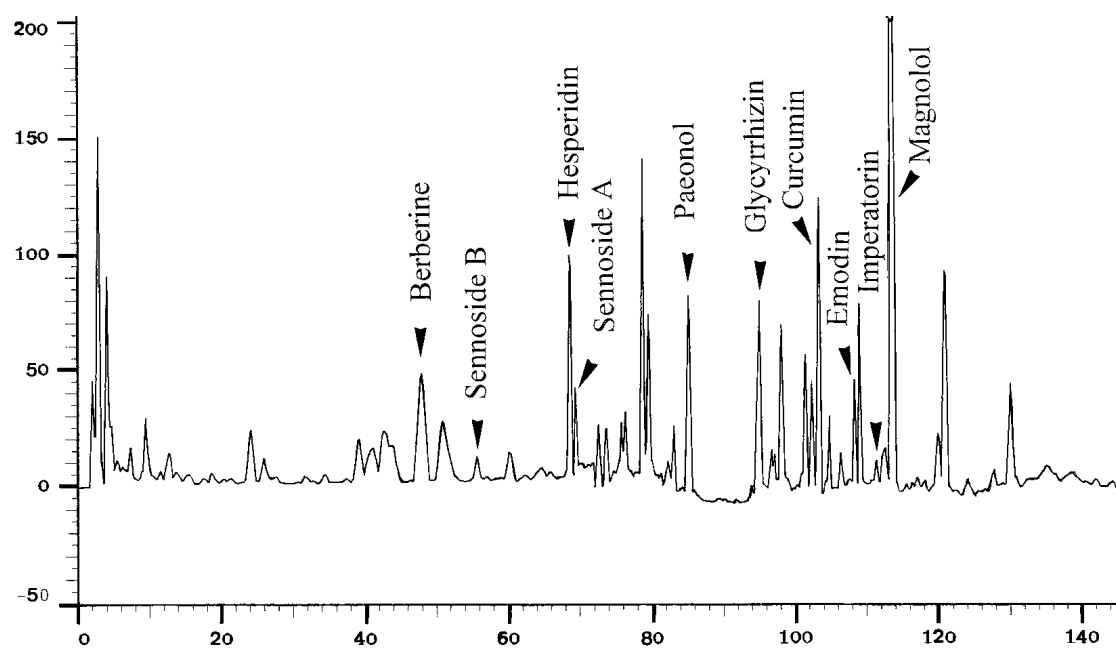


圖三一、綠云膏不同萃取方法之 HPLC 層析圖

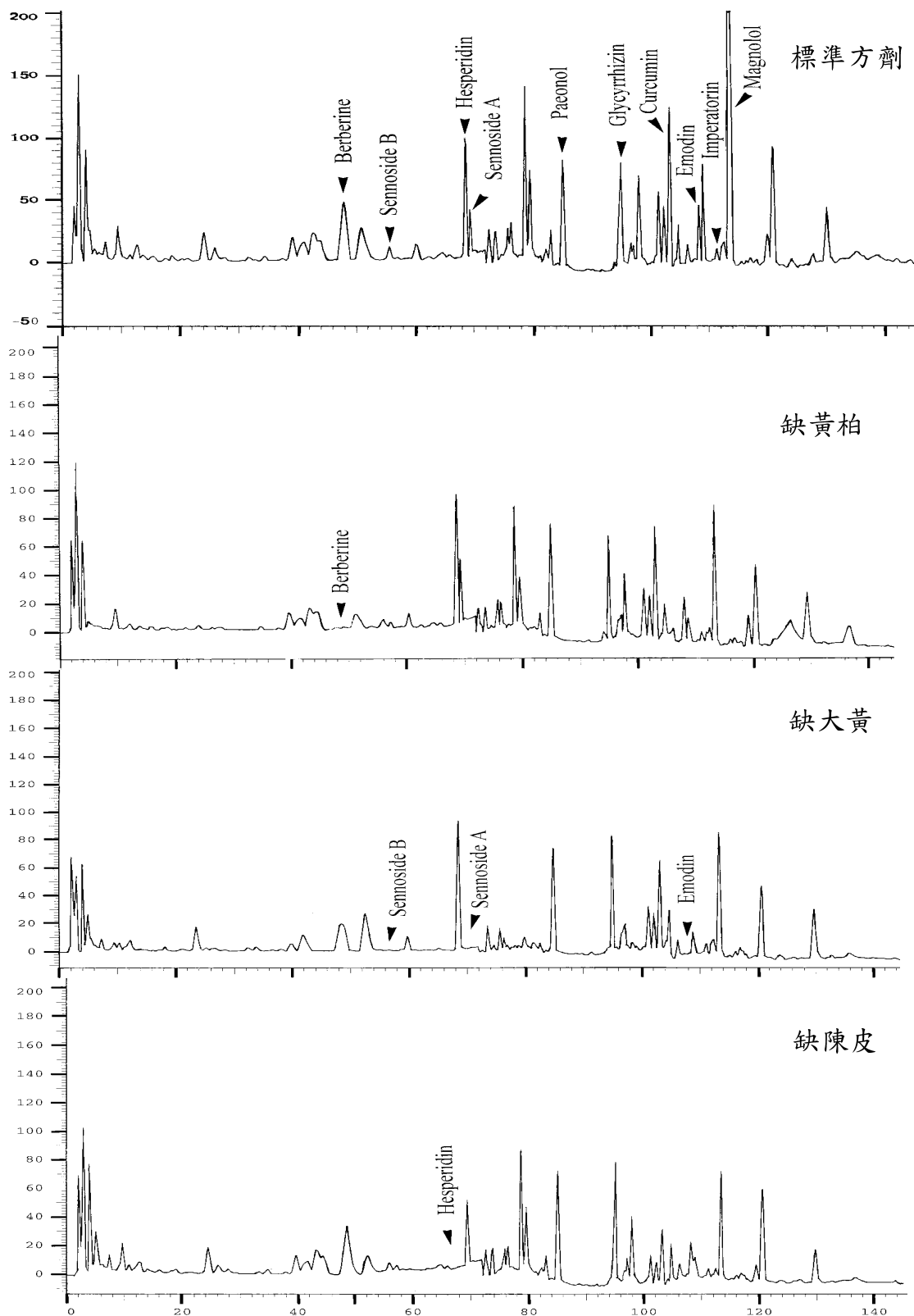


1: coptisine; 2: berberine; 3 :sennoside A; 4 : baicalin; 5:harpagoside;
6: baicalein; 7: emodin

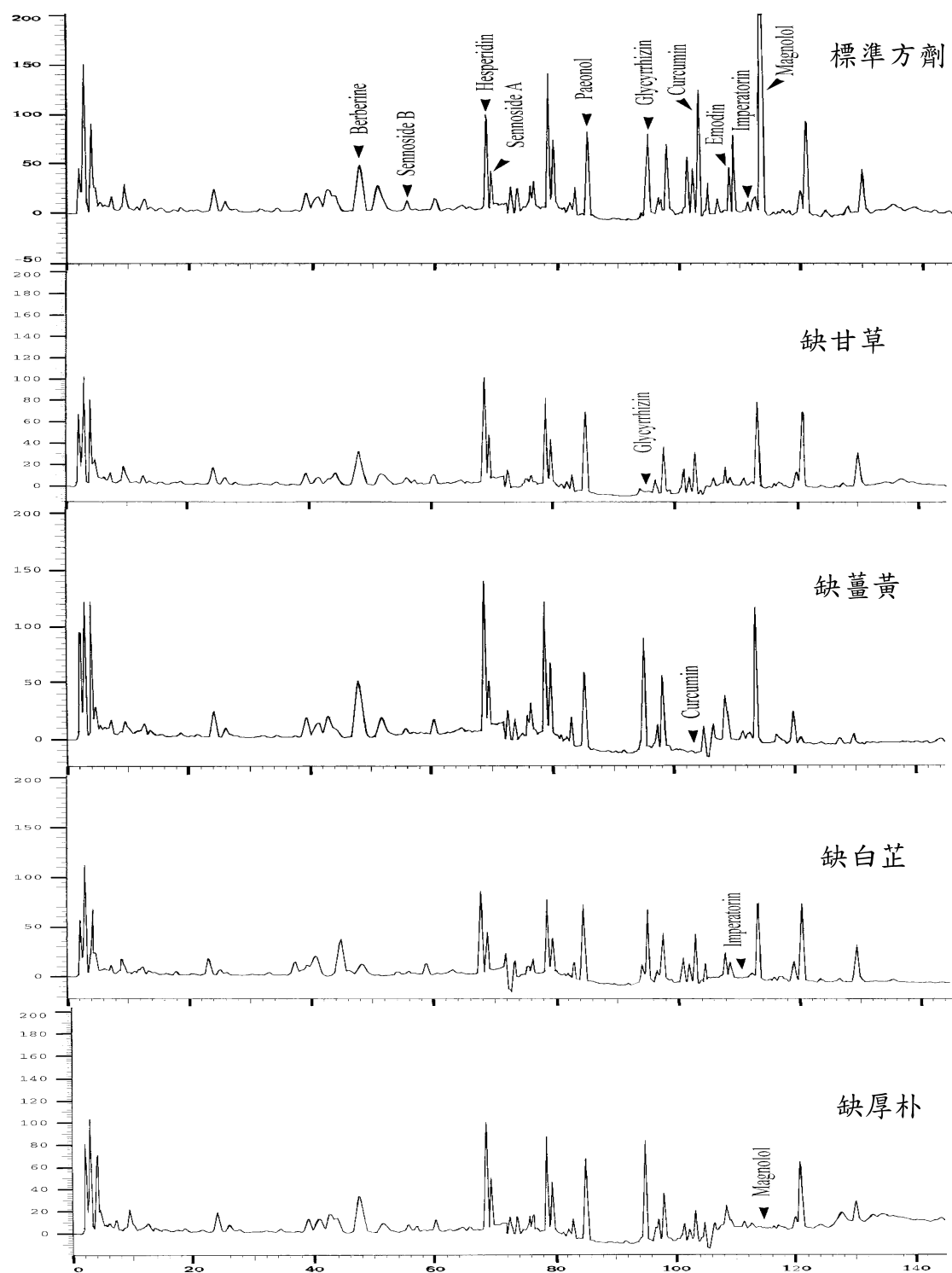
圖三二、綠云膏水性及油性藥膠布之 HPLC 層析圖



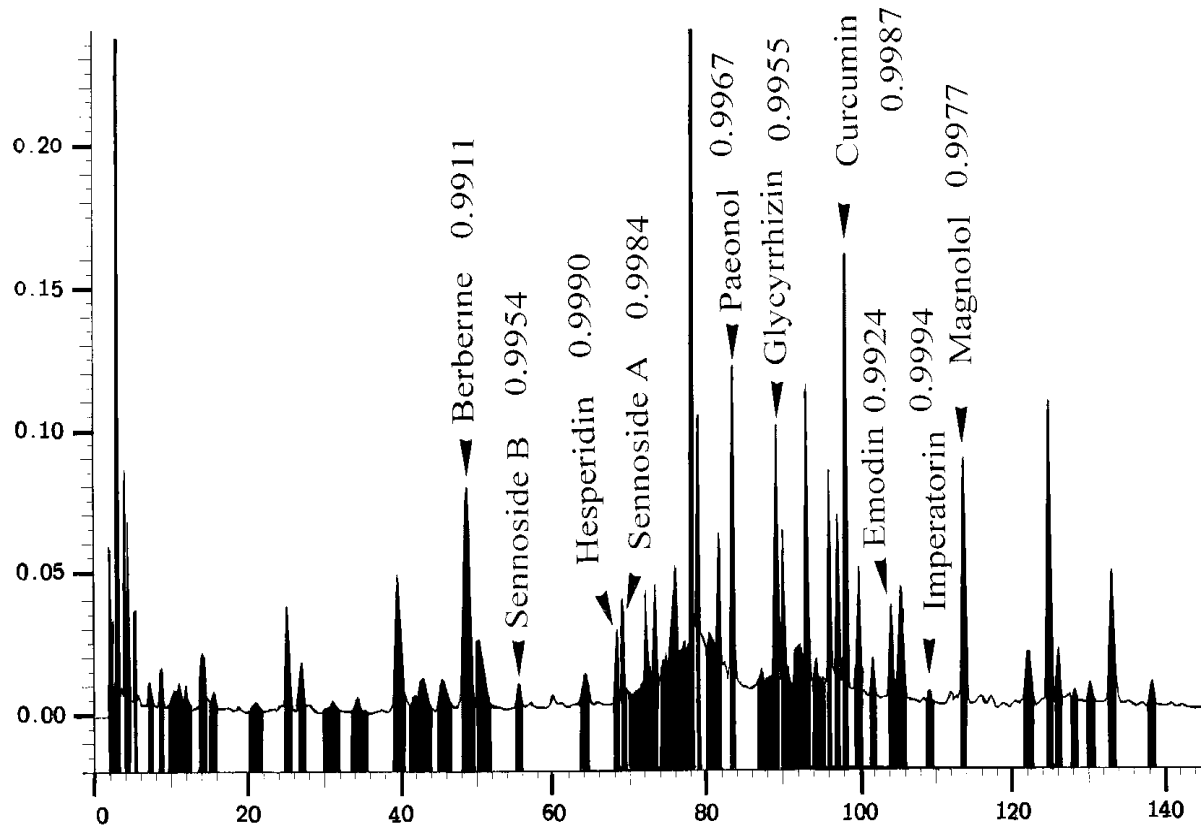
圖三三、如意金黃散標準方劑與各指標成分之 HPLC 層析圖



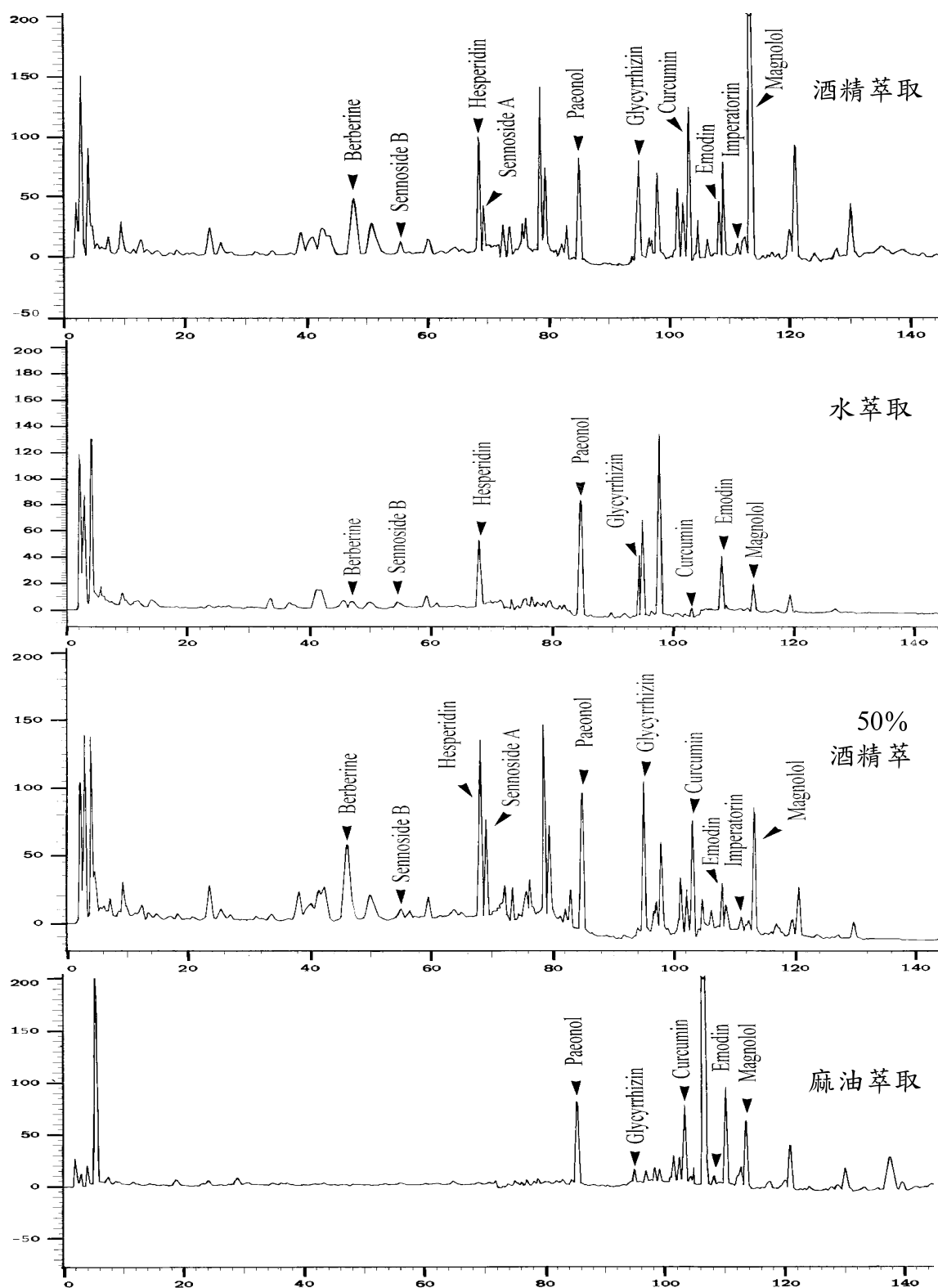
圖三四、如意金黃散標準方劑與標準方劑中缺黃柏、大黃及陳皮之 HPLC 層析圖



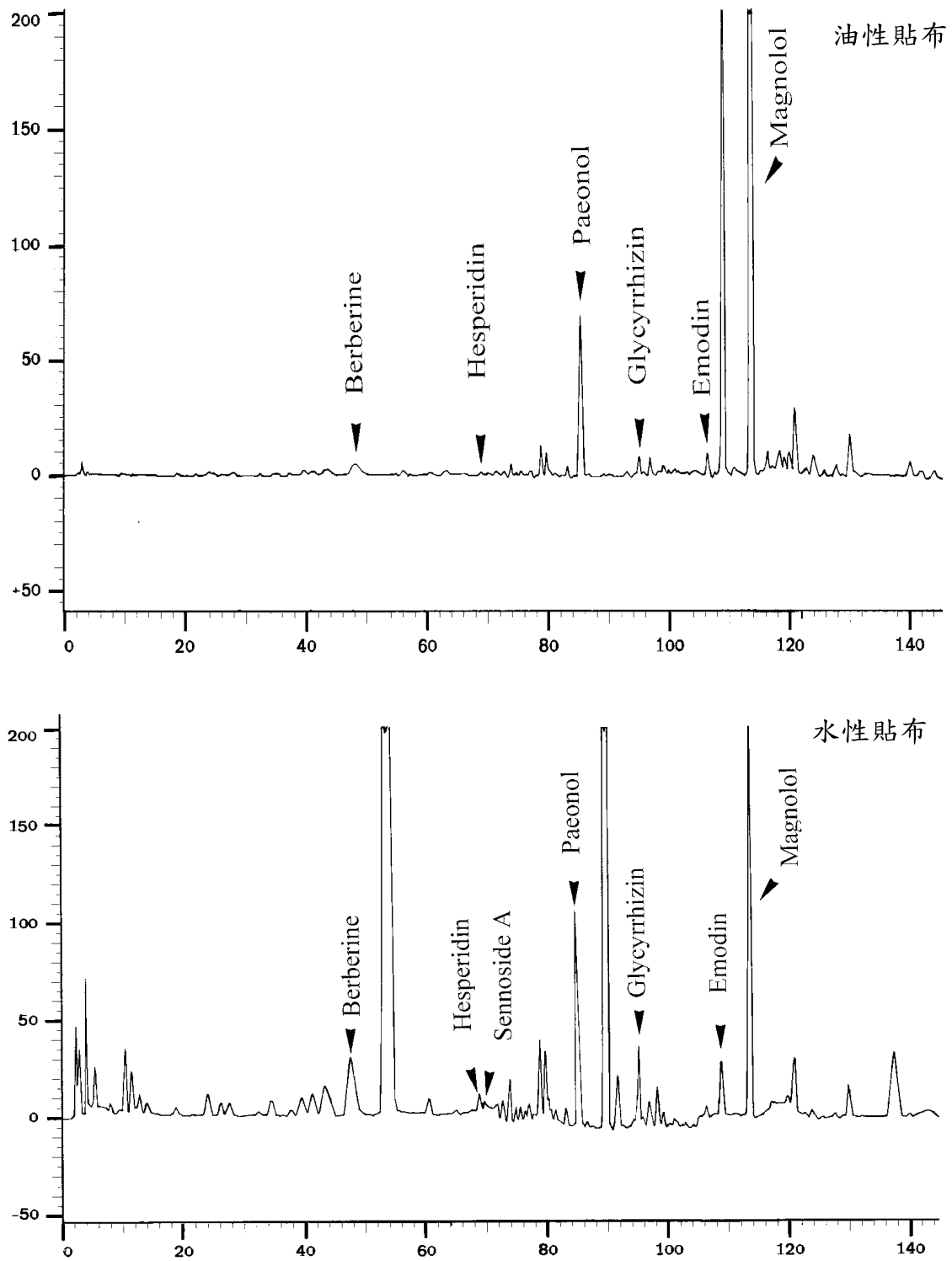
圖三五、如意金黃散標準方劑與標準方劑中缺甘草、薑黃、白芷及厚朴之 HPLC 層析圖



圖三六、如意金黃散標準方劑與各指標成分之 PDA-HPLC 層析圖



圖三七、如意金黃散不同萃取方法之 HPLC 層析圖



圖三八、如意金黃散水性及油性藥膠布之 HPLC 層析圖

表一、金門龍鳳酒移動相之梯度沖提程式

| 時間(min) | 60% acetonitrile(%) | 10% acetonitrile(%) |
|---------|---------------------|---------------------|
| 0 | 0 | 100 |
| 10 | 5 | 95 |
| 15 | 10 | 90 |
| 25 | 20 | 80 |
| 50 | 100 | 0 |
| 60 | 100 | 0 |
| 70 | 0 | 100 |

表二、金門龍鳳酒之 intra-day、inter-day 及 recovery 確效試驗

| Compound | Concentration (μ g/mL) | CV (%) | | Recovery (%) |
|----------------|--------------------------------|-----------------|-----------------|-------------------|
| | | intra-day (n=5) | inter-day (n=4) | |
| Loganin | 300.000 | 0.73 | 2.47 | 103.74 \pm 4.42 |
| | 75.000 | 0.74 | 2.38 | 101.04 \pm 2.18 |
| | 18.750 | 0.76 | 4.18 | 106.18 \pm 4.65 |
| Scopoletin | 50.000 | 1.69 | 1.73 | 100.62 \pm 0.98 |
| | 12.500 | 2.89 | 2.58 | 102.35 \pm 2.27 |
| | 3.125 | 3.03 | 4.30 | 97.93 \pm 4.06 |
| Ferulic acid | 20.000 | 2.72 | 3.42 | 101.06 \pm 4.57 |
| | 5.000 | 3.46 | 3.95 | 103.04 \pm 4.57 |
| | 1.250 | 4.90 | 4.56 | 107.11 \pm 4.12 |
| Cinnamic acid | 40.000 | 1.83 | 1.10 | 100.12 \pm 0.68 |
| | 10.000 | 1.37 | 3.05 | 101.85 \pm 1.77 |
| | 2.500 | 3.17 | 5.32 | 103.11 \pm 4.09 |
| Cinnamaldehyde | 72.000 | 1.69 | 3.15 | 99.58 \pm 1.16 |
| | 18.000 | 0.99 | 2.98 | 99.90 \pm 3.36 |
| | 4.500 | 3.28 | 4.73 | 101.86 \pm 4.89 |
| Schizandrin | 200.000 | 1.75 | 1.82 | 113.67 \pm 3.97 |
| | 50.000 | 0.79 | 2.37 | 116.44 \pm 2.20 |
| | 12.500 | 3.17 | 2.72 | 111.69 \pm 4.60 |
| Gomisin A | 80.000 | 0.45 | 1.68 | 96.53 \pm 4.56 |
| | 20.000 | 2.37 | 2.86 | 102.18 \pm 1.29 |
| | 5.000 | 4.67 | 3.74 | 98.70 \pm 2.60 |

表三、添加不同倍數量之米酒，對金門龍鳳酒
7 種指標成分含量之影響

| 成分 | 2 倍 | 4 倍 | 8 倍 | 12 倍 | 16 倍 | 20 倍 |
|-----|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| LO | 63.12±4.87 | 65.60±4.45 | 66.70±2.83 | 67.70±3.81 | 63.80±4.99 | 62.82±4.20 |
| SCO | 6.60±5.90 | 6.98±3.77 | 7.80±4.46 | 7.72±3.50 | 7.80±4.19 | 7.28±6.20 |
| FA | 3.60±1.97 | 3.48±2.96 | 4.20±5.35 | 3.56±5.07 | 3.52±3.21 | 3.36±2.54 |
| CA | 1.36±1.53 | 2.14±3.27 | 3.52±4.92 | 3.74±4.19 | 3.60±3.32 | 3.70±5.31 |
| CM | 1.38±6.25 | 2.38±6.10 | 4.96±7.10 | 5.06±4.99 | 4.68±7.67 | 5.04±2.88 |
| SCH | 21.10±3.38 | 28.60±5.93 | 30.44±5.22 | 31.16±4.06 | 31.76±5.09 | 31.46±2.47 |
| GA | 6.50±5.58 | 6.94±4.99 | 7.44±2.15 | 7.80±4.47 | 8.04±3.91 | 8.00±5.27 |

※Data represented as mean (mg/one dose)±C.V. value (%).

※LO：loganin、SCO：scopoletin、FA：ferulic acid、CA：cinnamic acid、CM：cinnamaldehyde、SCH：schizandrin、GA：gomisin A

表四、添加不同萃取溫度條件，對金門龍鳳酒
7 種指標成分含量之影響

| 成分 | 室溫，3 週 | 45°C，24hr | 60°C，12hr | 煮沸，3hr |
|----------------|------------|------------|------------|------------|
| Loganin | 59.32±3.07 | 57.82±1.54 | 62.28±4.52 | 73.02±2.54 |
| Scopoletin | 6.46±4.19 | 10.20±2.36 | 14.38±1.67 | 16.68±3.14 |
| Ferulic acid | 2.80±6.21 | 3.42±6.38 | 3.68±1.70 | 4.48±1.88 |
| Cinnamic acid | 2.22±5.79 | 2.46±6.41 | 2.42±2.86 | 4.58±2.91 |
| Cinnamaldehyde | 1.20±7.24 | 1.82±4.62 | 1.44±6.04 | 2.04±6.27 |
| Schizandrin | 27.64±6.44 | 28.44±4.84 | 27.34±3.98 | 22.12±1.07 |
| Gomisin A | 8.80±3.61 | 6.74±1.36 | 5.56±5.41 | 4.20±7.09 |

※Data represented as mean (mg/one dose)±C.V. value (%).

表五、嘉義大學金門龍鳳酒製品 7 種指標成分含量之結果

| 條件 | LO | FA | SCO | CA | CM | SCH | GA |
|----|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 1 | 2.08±3.42 | 0.31±2.38 | 0.13±2.77 | 0.25±1.39 | 0.13±1.78 | 0.73±5.61 | 0.32±0.49 |
| 2 | 1.99±1.59 | 0.40±2.06 | 0.15±5.44 | 0.06±5.04 | 0.01±0.86 | 0.21±1.08 | 0.05±4.04 |
| 3 | 2.00±5.27 | 0.42±0.39 | 0.17±4.16 | 0.40±5.08 | 0.01±1.36 | 0.55±4.06 | 0.16±2.36 |
| 4 | 2.13±5.41 | 0.31±4.17 | 0.14±3.71 | 0.32±2.21 | 0.05±0.68 | 1.01±4.36 | 0.40±3.64 |
| 5 | 1.92±3.08 | 0.36±5.52 | 0.13±3.54 | 0.14±5.07 | 0.15±4.83 | 1.10±3.75 | 0.50±3.94 |
| 6 | 1.73±0.38 | 0.31±4.93 | 0.17±3.60 | 0.10±2.93 | 0.02±4.35 | 0.29±3.80 | 0.07±2.08 |
| 7 | 1.93±0.99 | 0.39±0.36 | 0.14±2.50 | 0.22±3.63 | 0.01±3.25 | 0.75±1.41 | 0.24±4.62 |
| 8 | 2.05±4.20 | 0.38±1.92 | 0.18±0.88 | 0.36±5.12 | 0.02±5.98 | 1.20±0.97 | 0.52±4.43 |
| 9 | 1.82±1.05 | 0.33±3.53 | 0.17±4.98 | 0.27±5.32 | 0.13±4.59 | 1.20±2.09 | 0.52±2.87 |
| 10 | 1.83±4.44 | 0.30±7.5 | 0.16±1.28 | 0.07±0.41 | 0.02±5.57 | 0.37±3.39 | 0.06±3.74 |
| 11 | 2.03±0.54 | 0.34±0.33 | 0.15±0.74 | 0.31±0.31 | 0.31±10.9 | 0.69±0.33 | 0.38±0.09 |
| 12 | 2.19±3.21 | 0.35±3.19 | 0.15±5.90 | 0.36±3.59 | 0.12±1.79 | 1.28±1.58 | 0.52±3.72 |
| 13 | 2.20±4.13 | 0.34±1.89 | 0.18±6.50 | 0.32±5.50 | 0.17±1.54 | 1.86±1.22 | 0.53±3.88 |
| 14 | 2.10±1.01 | 0.33±4.73 | 0.16±4.39 | 0.31±4.67 | 0.18±5.24 | 0.96±2.73 | 0.42±1.59 |
| 15 | 2.17±1.61 | 0.32±5.74 | 0.16±5.82 | 0.22±3.56 | 0.17±2.93 | 1.12±2.27 | 0.50±3.47 |

※Data represented as mean (mg/30mL)±C.V. value (%).

※LO : loganin、SCO : scopoletin、FA : ferulic acid、CA : cinnamic acid、
CM : cinnamaldehyde、SCH : schizandrin、GA : gomisin A

※1. 30°C, 15 day, 70% ; 2. 30°C, 30 day, 30% ; 3. 30°C, 30 day, 50% ;
4. 30°C, 30 day, 70% ; 5. 30°C, 30 day, 90% ; 6. 30°C, 60 day, 30% ;
7. 30°C, 60 day, 50% ; 8. 30°C, 60 day, 70% ; 9. 30°C, 60 day, 90% ;
10. 30°C, 90 day, 30% ; 11. 30°C, 90 day, 50% ; 12. 30°C, 90 day, 70% ;
13. 30°C, 90 day, 90% ; 14. 40°C, 15 day, 70% ; 15. 40°C, 30 day, 70%.

表六、萬應膏移動相之梯度沖提程式

| 時間(min) | 60% acetonitrile(%) | 10% acetonitrile(%) |
|---------|---------------------|---------------------|
| 0 | 92 | 8 |
| 20 | 90 | 10 |
| 30 | 82 | 18 |
| 40 | 72 | 28 |
| 50 | 60 | 40 |
| 60 | 50 | 50 |
| 70 | 30 | 70 |
| 100 | 30 | 70 |
| 110 | 0 | 100 |
| 120 | 92 | 8 |

表七、萬應膏之 intra-day、inter-day 及 recovery 確效試驗

| Compound | Concentration (μ g/mL) | CV (%) | | Recovery (%) |
|----------------|--------------------------------|--------------------|--------------------|-------------------|
| | | intra-day (n=5) | inter-day (n=4) | |
| Paeoniflorin | 40.000 | 0.37 | 0.42 | 101.20 \pm 5.56 |
| | 10.000 | 0.99 | 3.34 | 99.20 \pm 6.15 |
| | 2.500 | 3.33 | 0.95 | 99.20 \pm 7.75 |
| Ferulic acid | 96.000 | 0.48 | 0.92 | 96.36 \pm 6.11 |
| | 24.000 | 0.55 | 0.14 | 99.29 \pm 7.78 |
| | 6.000 | 0.71 | 0.93 | 99.91 \pm 4.09 |
| Sennoside B | 600.00 | 0.86 | 1.23 | 101.54 \pm 2.78 |
| | 150.00 | 0.55 | 0.40 | 102.34 \pm 3.89 |
| | 18.75 | 0.92 | 0.73 | 103.25 \pm 4.56 |
| Sennoside A | 50.000 | 0.50 | 1.02 | 100.35 \pm 7.65 |
| | 12.500 | 0.40 | 0.18 | 100.62 \pm 3.17 |
| | 3.125 | 1.18 | 0.50 | 99.95 \pm 5.37 |
| Aconitine | 40.000 | 0.64 | 0.25 | 99.36 \pm 7.05 |
| | 10.000 | 0.06 | 1.03 | 100.58 \pm 6.97 |
| | 2.500 | 1.83 | 3.76 | 101.11 \pm 4.71 |
| Harpagoside | 100.000 | 0.25 | 0.53 | 96.40 \pm 2.69 |
| | 25.000 | 0.24 | 0.62 | 103.46 \pm 2.75 |
| | 6.250 | 0.15 | 2.87 | 99.18 \pm 2.39 |
| Cinnamic acid | 38.000 | 0.35 | 0.72 | 96.29 \pm 3.78 |
| | 9.500 | 0.37 | 0.23 | 103.19 \pm 6.43 |
| | 2.375 | 1.24 | 0.87 | 102.13 \pm 4.72 |
| Cinnamaldehyde | 398.000 | 0.32 | 1.59 | 100.20 \pm 5.88 |
| | 99.500 | 1.06 | 1.57 | 102.70 \pm 3.35 |
| | 24.875 | 1.10 | 0.36 | 102.85 \pm 2.39 |
| Glycyrrhizine | 88.000 | 0.53 | 1.55 | 100.51 \pm 4.87 |
| | 22.000 | 3.09 | 2.54 | 101.24 \pm 3.68 |
| | 5.500 | 1.06 | 2.98 | 102.38 \pm 4.55 |
| Emodin | 40.000 | 1.35 | 0.62 | 98.56 \pm 2.32 |
| | 10.000 | 0.87 | 4.71 | 101.39 \pm 3.68 |
| | 2.500 | 1.44 | 4.33 | 97.59 \pm 3.43 |
| Isoimperatorin | 24.000 | 0.96 | 2.13 | 98.30 \pm 3.86 |
| | 6.000 | 1.86 | 2.61 | 97.51 \pm 4.90 |
| | 1.500 | 0.83 | 4.24 | 98.79 \pm 3.38 |

表八、萬應膏不同溶媒萃取及貼布之 11 種指標成分含量變化

| | Sesame oil ⁽¹⁾ | Ethanol ⁽¹⁾ | 50% Ethanol ⁽¹⁾ | Water ⁽¹⁾ | Patch ⁽²⁾ Water base | Patch ⁽²⁾ Oil base |
|----|---------------------------|------------------------|-------------------------------|----------------------|------------------------------------|----------------------------------|
| PA | 2.62±5.26 | 202.56±1.21 | 172.06±0.17 | 137.94±3.50 | 0.53±5.50 | 4.12±1.24 |
| FA | 0.10±2.15 | 21.54±0.21 | 15.73±2.04 | 12.28±3.40 | -- | 0.19±2.76 |
| SB | -- | 42.10±4.60 | 12.18±4.60 | 21.28±0.82 | -- | 1.18±1.41 |
| SA | 1.96±4.12 | 11.08±2.26 | 36.27±4.56 | 27.99±2.94 | 7.86±3.59 | 0.02±2.75 |
| AC | 0.81±1.81 | 107.62±0.41 | 40.76±3.92 | 20.66±4.20 | -- | -- |
| HA | 1.10±0.79 | 264.42±0.15 | 74.40±0.68 | 16.18±2.04 | -- | -- |
| CA | 2.44±0.20 | 152.02±2.54 | 175.54±3.52 | 50.41±3.70 | -- | 2.79±0.79 |
| CM | -- | 372.94±0.56 | 113.52±3.00 | -- | -- | 0.80±1.25 |
| GH | 15.35±3.71 | 400.18±2.50 | 463.38±3.72 | 110.62±1.77 | -- | 5.03±0.25 |
| EM | 9.23±4.93 | 241.35±1.37 | 173.62±0.15 | 2.27±2.54 | -- | -- |
| IP | 34.22±0.89 | 239.25±3.75 | 174.56±5.81 | 77.56±2.89 | -- | 2.00±4.08 |

※(1)Data represented as mean (mg/one dose)±C.V. value (%)

※(2)Data represented as mean (mg/one piece)±C.V. value (%)

※PA : Paeoniflorin ; FA : Ferulic acid ; SB : Sennoside B ; SA : Sennoside A ;
AC : Aconitine ; HA : Harpagoside ; CA : Cinnamic acid ; CM : Cinnamaldehyde ;
GH : Glycyrrhizine ; EM : Emodin ; IP : Isoimperatorin.

表九、太乙膏移動相之梯度沖提程式

| 時間(min) | 60% acetonitrile(%) | 10% acetonitrile(%) |
|---------|---------------------|---------------------|
| 0 | 0 | 100 |
| 10 | 5 | 95 |
| 15 | 10 | 90 |
| 25 | 20 | 80 |
| 50 | 100 | 0 |
| 60 | 100 | 0 |
| 70 | 0 | 100 |

表十、太乙膏之 intra-day、inter-day 及 recovery 確效試驗

| Compound | Concentration (μ g/mL) | CV (%) | | Recovery (%) |
|----------------|--------------------------------|--------------------|--------------------|-------------------|
| | | intra-day (n=5) | inter-day (n=4) | |
| Paeoniflorin | 40.000 | 1.64 | 1.51 | 101.86 \pm 4.89 |
| | 10.000 | 1.67 | 0.90 | 97.90 \pm 3.36 |
| | 2.500 | 0.65 | 0.77 | 97.58 \pm 1.16 |
| Ferulic acid | 96.000 | 2.00 | 0.49 | 103.11 \pm 4.09 |
| | 24.000 | 0.50 | 0.13 | 101.85 \pm 1.77 |
| | 6.000 | 0.23 | 3.33 | 100.12 \pm 0.68 |
| Sennoside B | 600.000 | 0.35 | 1.51 | 103.54 \pm 2.78 |
| | 150.000 | 1.24 | 0.11 | 105.34 \pm 3.89 |
| | 18.75 | 0.78 | 0.64 | 106.25 \pm 4.56 |
| Sennoside A | 50.000 | 2.13 | 1.11 | 107.23 \pm 4.42 |
| | 12.500 | 0.52 | 1.09 | 103.04 \pm 4.57 |
| | 3.125 | 0.54 | 0.61 | 101.06 \pm 1.26 |
| Harpagoside | 100.000 | 2.34 | 0.63 | 104.38 \pm 4.52 |
| | 25.000 | 2.30 | 1.11 | 102.14 \pm 3.86 |
| | 6.250 | 1.38 | 1.01 | 98.44 \pm 2.06 |
| Cinnamic acid | 38.000 | 2.07 | 4.86 | 98.79 \pm 4.83 |
| | 9.500 | 0.95 | 3.47 | 96.11 \pm 3.83 |
| | 2.375 | 0.76 | 3.56 | 98.45 \pm 3.91 |
| Cinnamaldehyde | 398.000 | 1.83 | 3.33 | 103.44 \pm 4.23 |
| | 99.500 | 0.71 | 4.43 | 101.20 \pm 2.88 |
| | 24.875 | 0.42 | 3.37 | 100.80 \pm 3.02 |
| Emodin | 40.000 | 2.19 | 3.34 | 103.74 \pm 4.42 |
| | 10.000 | 0.30 | 4.49 | 101.04 \pm 2.18 |
| | 2.500 | 0.68 | 2.09 | 106.18 \pm 4.65 |
| Isoimperatorin | 24.000 | 2.45 | 1.44 | 100.62 \pm 0.98 |
| | 6.000 | 2.41 | 3.56 | 102.35 \pm 2.27 |
| | 1.500 | 2.51 | 2.16 | 95.96 \pm 4.28 |

表十一、太乙膏不同溶媒萃取之 9 種指標成分含量變化

| Compound | Sesame oil | Ethanol | 50% Ethanol | Water |
|----------------|------------|-------------|-------------|-------------|
| Paeoniflorin | -- | 26.69±1.88 | 114.23±2.14 | 92.99±2.98 |
| Ferulic acid | 0.18±2.30 | 3.27±6.70 | 11.23±1.27 | 4.54±1.17 |
| Sennoside B | -- | 147.21±4.62 | 219.29±5.39 | 137.62±4.83 |
| Sennoside A | -- | 11.23±1.52 | 56.82±2.54 | -- |
| Harpagoside | 0.11±5.37 | 3.77±6.95 | 14.37±1.46 | -- |
| Cinnamic acid | 0.47±2.18 | 5.33±3.14 | 15.18±0.95 | 4.22±2.16 |
| Cinnamaldehyde | 0.72±2.14 | 5.42±2.48 | -- | -- |
| Emodin | -- | 0.75±5.97 | 1.57±4.70 | -- |
| Isoimperatorin | -- | 4.03±3.63 | 1.56±5.68 | -- |

※Data represented as mean (mg/one dose)±C.V. value (%)

表十二、十全大補藥移動相之梯度沖提程式

| Time (min) | Flow rate (mL/min) | Mobile phase A (%) | Mobile phase B (%) |
|---------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 0 | 1.0 | 90 | 10 |
| 10 | 1.0 | 80 | 20 |
| 13 | 1.0 | 77 | 23 |
| 23 | 1.0 | 77 | 23 |
| 30 | 1.0 | 50 | 50 |
| 40 | 1.0 | 40 | 60 |
| 50 | 1.0 | 30 | 70 |
| 60 | 1.0 | 0 | 100 |
| 65 | 1.0 | 0 | 100 |
| 70 | 1.0 | 90 | 0 |
| 75 | 1.0 | 90 | 0 |

A: 10% acetonitrile (adjusted to pH 2.8 with phosphoric acid).

B: 60% acetonitrile (adjusted to pH 2.8 with phosphoric acid). •

表十三、十全大補藥酒分析方法之確效試驗 (一)

| Compound | Concentration (μ g/mL) | CV(%) | |
|----------------|--------------------------------|-----------------|-----------------|
| | | intra-day (n=5) | inter-day (n=4) |
| Paeoniflorin | 128.00 | 0.07 | 0.55 |
| | 32.00 | 0.07 | 0.43 |
| | 8.00 | 0.77 | 0.58 |
| Ferulic acid | 108.00 | 1.26 | 1.31 |
| | 27.00 | 0.10 | 0.81 |
| | 6.75 | 0.31 | 0.53 |
| Cinnamic acid | 124.00 | 0.50 | 0.74 |
| | 31.00 | 0.30 | 0.31 |
| | 7.75 | 3.05 | 0.90 |
| Cinnamaldehyde | 1000.00 | 0.31 | 1.03 |
| | 250.00 | 0.09 | 0.68 |
| | 62.50 | 0.41 | 1.25 |
| Glycyrrhizin | 2076.00 | 0.52 | 0.37 |
| | 519.00 | 0.19 | 0.41 |
| | 129.75 | 1.62 | 1.88 |
| Calycosin | 12.00 | 0.45 | 1.17 |
| | 3.00 | 2.37 | 3.33 |
| | 0.75 | 3.60 | 4.67 |

表十四、十全大補藥酒分析方法之確效試驗（二）

| Compound | Added (mg/mL) | Found ^{a)} (mg/mL) | Recovery (%) |
|----------------|---------------|-----------------------------|--------------|
| Paeoniflorin | 128.00 | 130.00 | 101.56±0.24 |
| | 32.00 | 33.00 | 103.13±0.65 |
| | 8.00 | 10.00 | 125.00±0.25 |
| Ferulic acid | 108.00 | 107.55 | 99.58±0.45 |
| | 27.00 | 29.11 | 107.81±0.38 |
| | 6.75 | 7.64 | 106.18±0.22 |
| Cinnamic acid | 124.00 | 127.36 | 102.71±3.27 |
| | 31.00 | 33.24 | 107.22±3.55 |
| | 7.75 | 7.26 | 93.68±2.38 |
| Cinnamaldehyde | 1000.00 | 986.57 | 98.65±0.50 |
| | 250.00 | 241.36 | 96.54±0.41 |
| | 62.50 | 57.69 | 92.30±0.30 |
| Glycyrrhizin | 2076.00 | 2156.00 | 103.85±0.21 |
| | 519.00 | 543.11 | 104.64±0.06 |
| | 129.75 | 145.23 | 111.93±0.79 |
| Calycosin | 12.00 | 11.91 | 99.25±1.23 |
| | 3.00 | 3.21 | 107.00±1.08 |
| | 0.75 | 0.82 | 109.33±1.33 |

(a) : Mean, n=7 ; (b) : Mean±S.D., n=7

表十五、十全大補藥酒之定量分析

| Pa | Fa | Ca | Cm | Gly | Cal |
|-------------|-----------|-----------|------------|------------|-----------|
| 1 1.97±0.82 | 0.84±5.00 | 2.56±2.22 | 22.79±1.48 | 33.00±3.87 | 0.07±0.03 |
| 2 1.71±0.73 | 2.91±2.10 | 2.09±0.28 | 57.66±0.73 | 30.29±3.01 | 0.17±0.02 |
| 3 1.78±1.71 | 2.22±0.91 | 2.05±0.23 | 44.85±0.09 | 37.34±1.92 | 0.51±0.03 |
| 4 2.25±0.24 | 2.02±4.03 | 2.69±1.71 | 52.91±1.69 | 31.02±2.37 | 0.53±0.33 |
| 5 2.06±3.16 | 1.57±1.21 | 2.24±0.09 | 43.15±0.14 | 30.72±1.23 | 0.41±1.33 |
| 6 2.37±0.92 | 2.39±1.15 | 2.58±0.34 | 49.96±0.10 | 35.28±4.16 | 0.53±3.25 |

※Data represented as mean (mg/30mL)±C.V. value (%).

※ Pa : Paeoniflorin ; Fa : Ferulic acid ; Ca : Cinnamic acid ;

※ Cm : Cinnamaldehyde ; Gly : Glycyrrhizine ; Cal : Calycosin.

※1. 30°C, 30 day, 50% ; 2. 30°C, 30 day, 70% ; 3. 30°C, 60 day, 50% ; 4. 30°C, 60 day, 70% ; 5. 30°C, 90 day, 50% ; 6. 30°C, 90 day, 70%.

| 表十六、綠云膏移動相之梯度沖提程式 | | | Time | Flow rate |
|-------------------|----------------|-----|------|-----------|
| Mobile phase A | Mobile phase B | | | |
| (min) | (mL/min) | (%) | (%) | |

| | | | |
|-----|-----|-----|-----|
| 0 | 1.0 | 100 | 0 |
| 40 | 1.0 | 100 | 0 |
| 45 | 1.0 | 90 | 10 |
| 55 | 1.0 | 85 | 15 |
| 60 | 1.0 | 80 | 20 |
| 80 | 1.0 | 75 | 25 |
| 90 | 1.0 | 70 | 30 |
| 95 | 1.0 | 50 | 50 |
| 110 | 1.0 | 0 | 100 |
| 115 | 1.0 | 100 | 0 |
| 120 | 1.0 | 100 | 0 |

A: 10% acetonitrile (adjusted to pH 2.8 with phosphoric acid).

B: 60% acetonitrile (adjusted to pH 2.8 with phosphoric acid). •

表十七、綠云膏分析方法之確效試驗(一)

| Compound | Concentration (μ g/mL) | CV(%) | |
|-------------|--------------------------------|-----------------|-----------------|
| | | intra-day (n=5) | inter-day (n=4) |
| coptisine | 80.00 | 0.77 | 0.65 |
| | 20.00 | 0.57 | 4.79 |
| | 5.00 | 0.78 | 0.79 |
| berberine | 240.00 | 0.54 | 1.48 |
| | 60.00 | 0.12 | 0.82 |
| | 15.00 | 0.10 | 0.32 |
| sennoside A | 120.00 | 1.25 | 2.55 |
| | 30.00 | 0.21 | 0.35 |
| | 7.50 | 0.05 | 0.15 |
| baicalin | 350.00 | 0.88 | 0.31 |
| | 87.50 | 0.10 | 0.29 |
| | 21.88 | 0.09 | 0.93 |
| harpagoside | 35.00 | 0.02 | 0.27 |
| | 8.75 | 1.30 | 0.84 |
| | 2.19 | 1.17 | 1.18 |
| baicalein | 350.00 | 0.21 | 0.23 |
| | 87.50 | 0.25 | 1.04 |
| | 21.88 | 0.03 | 1.11 |
| emodin | 40.00 | 0.65 | 0.18 |
| | 10.00 | 0.11 | 0.58 |
| | 2.50 | 0.30 | 2.64 |

表十八、綠云膏分析方法之確效試驗 (二)

| Compound | Added (mg/mL) | Found ^a (mg/mL) | Recovery (%) |
|-----------|---------------|----------------------------|--------------|
| coptisine | 80.00 | 81.01 | 101.26±0.14 |
| | 20.00 | 18.13 | 90.65±0.85 |

| | | | |
|-------------|--------|--------|-------------|
| | 5.00 | 5.34 | 106.80±0.34 |
| | 240.00 | 239.21 | 99.67±0.21 |
| berberine | 60.00 | 59.71 | 99.51±0.18 |
| | 15.00 | 15.93 | 106.20±0.51 |
| | 120.00 | 114.67 | 95.56±0.54 |
| sennoside A | 30.00 | 29.05 | 96.83±0.79 |
| | 7.50 | 7.75 | 103.33±1.73 |
| | 350.00 | 353.01 | 100.86±0.23 |
| baicalin | 87.50 | 106.60 | 121.83±0.37 |
| | 21.88 | 20.99 | 95.93±0.41 |
| | 35.00 | 34.20 | 97.71±0.32 |
| harpagoside | 8.75 | 9.82 | 112.22±2.00 |
| | 2.19 | 2.22 | 101.37±0.79 |
| | 350.00 | 328.27 | 93.79±0.20 |
| baicalein | 87.50 | 80.41 | 91.90±2.12 |
| | 21.88 | 22.00 | 100.57±0.19 |
| | 40.00 | 37.69 | 94.22±0.98 |
| emodin | 10.00 | 10.74 | 107.40±2.35 |
| | 2.50 | 2.53 | 101.20±0.92 |

a) : Mean, n=7 ; b) : Mean±S.D., n=7

表十九、綠云膏不同萃取方法之定量分析

| Compound | Sesame oil | Ethanol | 50% Ethanol | Water |
|-------------|------------|------------|-------------|-----------|
| coptisine | - - | 5.26±0.71 | 5.87±0.31 | 0.16±0.51 |
| berberine | 0.07±0.43 | 25.45±0.25 | 29.17±0.05 | 0.68±0.08 |
| sennoside A | 0.10±1.48 | 39.33±0.21 | 45.13±0.18 | 0.05±1.19 |
| baicalin | -- | 64.65±0.18 | 73.32±0.11 | 0.36±0.53 |
| harpagoside | -- | 4.72±1.85 | 3.87±1.08 | 0.01±0.43 |
| baicalein | 1.47±0.14 | 23.01±0.32 | 25.08±0.08 | 0.61±2.8 |

Data represented as mean (mg/one dose)±C.V. value (%)

表二十、水性及油性貼布之定量分析

| | Patch Water base | Patch Oil base |
|-----------|---------------------|-------------------|
| coptisine | -- | 0.003±0.67 |
| berberine | 0.053±0.37 | 0.017±0.88 |

| | | |
|--|------------|------------|
| sennoside A | 0.061±2.59 | 0.006±1.24 |
| baicalin | -- | -- |
| harpagoside | -- | -- |
| baicalein | 0.043±0.37 | 0.024±1.54 |
| emodin | 0.009±1.37 | 0.004±0.70 |
| Data represented as mean (mg/one piece)±C.V. value (%) | | |

表二一、如意金黃散移動相之梯度沖提程式

| Time (min) | Flow rate (mL/min) | Mobile phase A (%) | Mobile phase B (%) |
|---------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 0 | 1.0 | 97 | 3 |
| 10 | 1.0 | 97 | 3 |
| 25 | 1.0 | 94 | 6 |
| 36 | 1.0 | 94 | 6 |
| 45 | 1.0 | 88 | 6 |
| 50 | 1.0 | 87 | 12 |
| 60 | 1.0 | 87 | 13 |
| 70 | 1.0 | 70 | 30 |
| 75 | 1.0 | 57 | 43 |
| 80 | 1.0 | 55 | 45 |
| 88 | 1.0 | 55 | 45 |
| 90 | 1.0 | 40 | 60 |
| 100 | 1.0 | 28 | 72 |
| 106 | 1.0 | 15 | 85 |
| 110 | 1.0 | 15 | 85 |
| 120 | 1.0 | 10 | 90 |
| 130 | 1.0 | 0 | 100 |
| 140 | 1.0 | 0 | 100 |
| 145 | 1.0 | 97 | 3 |

A: 10% acetonitrile (adjusted to pH 2.8 with phosphoric acid).

B: 70% acetonitrile (adjusted to pH 2.8 with phosphoric acid).

表二二、如意金黃散分析方法之同日間及異日間試驗

| Compound | Concentration | CV(%) | |
|-----------|---------------|-----------------|-----------------|
| | (μ g/mL) | intra-day (n=5) | inter-day (n=4) |
| Berberine | 200.00 | 0.12 | 0.65 |

| | | | |
|--------------|--------|------|------|
| | 50.00 | 0.44 | 1.01 |
| | 12.50 | 0.24 | 1.33 |
| | 20.00 | 1.26 | 1.31 |
| Sennoside B | 5.00 | 1.11 | 0.81 |
| | 1.25 | 1.36 | 1.65 |
| | 280.00 | 1.36 | 0.74 |
| Hesperidin | 70.00 | 0.56 | 0.31 |
| | 17.50 | 2.05 | 0.89 |
| | 160.00 | 1.31 | 1.05 |
| Sennoside A | 40.00 | 0.59 | 1.68 |
| | 10.00 | 0.41 | 1.25 |
| | 240.00 | 1.42 | 1.37 |
| Glycyrrhizin | 60.00 | 1.19 | 0.41 |
| | 15.00 | 1.52 | 1.88 |
| | 360.00 | 0.88 | 0.55 |
| Curcumin | 90.00 | 1.22 | 0.46 |
| | 22.50 | 1.25 | 0.53 |
| | 60.00 | 0.51 | 0.43 |
| Emodin | 15.00 | 0.59 | 0.43 |
| | 3.75 | 0.33 | 0.54 |
| | 60.00 | 0.54 | 0.58 |
| Imperatorin | 15.00 | 0.25 | 0.33 |
| | 3.75 | 0.33 | 0.41 |
| | 40.00 | 0.52 | 0.54 |
| Magnolol | 10.00 | 0.16 | 1.89 |
| | 2.500 | 1.64 | 0.37 |

表二三、如意金黃散分析方法之添加試驗

| Compound | Added (mg/mL) | Found ^{a)} (mg/mL) | Recovery ^{b)} (%) |
|-----------|------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Berberine | 200.00 | 207.12 | 103.56±0.44 |

| | | | |
|--------------|--------|--------|-------------|
| | 50.00 | 53.07 | 106.13±0.55 |
| | 12.50 | 13.60 | 109.00±0.93 |
| | 20.00 | 20.12 | 100.58±0.54 |
| Sennoside B | 5.00 | 5.39 | 107.81±0.22 |
| | 1.25 | 1.35 | 108.58±0.46 |
| | 280.00 | 285.07 | 101.81±3.76 |
| Hesperidin | 70.00 | 75.12 | 107.31±2.57 |
| | 17.50 | 16.52 | 94.40±3.38 |
| | 160.00 | 159.28 | 99.55±3.50 |
| Sennoside A | 40.00 | 39.42 | 98.55±4.41 |
| | 10.00 | 9.33 | 93.30±2.30 |
| | 240.00 | 255.70 | 106.54±0.21 |
| Glycyrrhizin | 60.00 | 65.19 | 108.65±0.06 |
| | 15.00 | 17.04 | 113.63±0.79 |
| | 360.00 | 365.62 | 101.56±0.64 |
| Curcumin | 90.00 | 93.72 | 104.13±0.35 |
| | 22.50 | 25.08 | 111.47±0.93 |
| | 60.00 | 60.34 | 100.56±0.54 |
| Emodin | 15.00 | 16.17 | 107.80±0.22 |
| | 3.75 | 4.08 | 108.80±0.46 |
| | 60.00 | 64.15 | 106.92±3.76 |
| Imperatorin | 15.00 | 16.10 | 107.33±2.57 |
| | 3.75 | 3.61 | 96.27±3.38 |
| | 40.00 | 39.86 | 99.65±1.23 |
| Magnolol | 10.00 | 10.00 | 100.00±1.08 |
| | 2.50 | 2.73 | 109.36±1.33 |

a) : Mean, n=7 ; b) : Mean±S.D., n=7

表二四、如意金黃散不同萃取方法之定量分析

| Compound | Sesame oil | Ethanol | 50% Ethanol | Water |
|-------------|------------|------------|-------------|------------|
| Berberine | - - | 77.20±0.45 | 75.11±0.32 | 11.17±0.10 |
| Sennoside B | - - | 4.94±0.02 | 7.55±0.26 | 1.14±1.08 |

| | | | | |
|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Hesperidin | - - | 182.72±1.33 | 232.91±1.81 | 123.34±0.74 |
| Sennoside A | - - | 27.54±2.21 | 79.38±2.39 | - - |
| Glycyrrhizin | 117.46±1.68 | 139.85±0.98 | 225.33±0.89 | 128.38±1.72 |
| Curcumin | 93.72±1.48 | 233.32±1.26 | 60.96±2.65 | 4.53±2.25 |
| Emodin | 11.41±1.80 | 9.62±3.20 | 9.36±1.81 | 5.73±2.25 |
| Imperatorin | - - | 24.03±1.05 | 6.36±2.05 | - - |
| Magnolol | 1.47±0.14 | 32.37±3.61 | 22.18±2.14 | 4.42±2.16 |

Data represented as mean (mg/one dose)±C.V. value (%)

表二五、如意金黃散水性及油性貼布之定量分析

| Compound | 水性貼布 | 油性貼布 |
|--------------|-----------|------------|
| Berberine | 0.58±1.25 | 0.12±0.19 |
| Sennoside B | - - | 0.02±1.38 |
| Hesperidin | 0.25±0.12 | 0.02±1.20 |
| Sennoside A | 0.09±1.06 | - - |
| Glycyrrhizin | 0.80±0.23 | 0.28±0.89 |
| Curcumin | - - | 0.002±4.32 |
| Emodin | 0.12±2.22 | 0.45±2.82 |
| Imperatorin | - - | - - |
| Magnolol | 0.46±0.48 | 2.32±0.78 |

Data represented as mean (mg/one piece)±C.V. value (%)

