

編號：CCMP91-CT-106

大黃酒製前後成分吸收之改變 及指紋圖譜之建立

李珮端

中國醫藥大學藥學系

摘 要

本研究利用同一批生大黃，經基原鑑定後，自行炮製而得熟大黃、酒大黃，以 HPLC 定量三種大黃水煎劑所含蘆薈大黃素、大黃酸、大黃素及大黃酚等成分，結果顯示此四種成分之含量皆以熟大黃最多，其次為生大黃，酒大黃最少。另外亦以 220 nm 及 250 nm 兩波長，建立三種大黃水煎劑層析指紋圖譜。

三種大黃水煎液經定量蘆薈大黃素、大黃酸、大黃素及大黃酚後，再分別加酸水解，經 HPLC 定量各成分含量，以計算各種大黃水煎液中蘆薈大黃素、大黃酸、大黃素及大黃酚配醣體之含量。另外，將三種水煎液分別以大白鼠糞便細菌溫孵，定量結果顯示四種成分的量皆明顯增高數倍，顯示大黃水煎劑有不少的配醣體存在。其中，熟大黃經細菌作用之後所產生之四種成分量仍為最高。此等結果與加酸水解所得結果一致。

大白鼠餵食相當於 2 g/kg 大黃的三種大黃水煎液後，血清檢品經 sulfatase、glucuronidase 分別水解，定量鼠體內之自由態成分及其結合態代謝物，藉以比較三種大黃水煎劑間吸收之差異。結果顯示，口服熟大黃後之大黃酸硫酸結合態代謝物與大黃酚硫酸結合態代謝物之血中濃度最高，而酒大黃與生大黃則較相近。

關鍵詞：大黃、炮製、酒製、大黃素、大黃酸、大黃酚、蘆薈大黃素

Number : CCMP91-CT-106

Effect of wine-processing on the absorption and fingerprint of rhubarb

Pei-Dawn Lee Chao

Department of Pharmacy, China Medical College, Taichung, Taiwan, R.O.C.

ABSTRACT

This project aimed to investigate the effect of processing on rhubarb. In this study, crude drug of rhubarb (R) was identified and processed in our laboratory according to literature. The contents of aloe-emodin, rhein, emodin and chrysophanol in various decoctions of rhubarb were determined by HPLC method. The quantitation results showed that the decoction of rhubarb steamed with wine (RSW) had the highest contents of anthraquinones, whereas those of rhubarb fried with wine (RFW) had the least. In addition, the HPLC fingerprints of various decoctions were established by detection at two wavelength, 220 nm and 250 nm, respectively.

After anthraquinone determination, various decoctions were hydrolyzed with hydrochloric acid and then assayed by HPLC method to calculate the total glycosides of each anthraquinone. Furthermore, various decoctions were incubated with rat fecal suspension. During incubation, the amount of each anthraquinone significantly increased, indicating the presence of a significant amount of corresponded glycosides. The results showed that RSW decoction can afford higher free anthraquinones and corresponded glycosides than R and RFW decoctions.

Finally, rats were administered with various decoctions equivalent to 2 g/kg after overnight fast. Blood was withdrawn via cardiopuncture and assayed by HPLC method prior to and after hydrolysis with sulfatase and glucuronidase, respectively. The results showed that the blood levels of rhein sulfates, chrysophanol sulfates

were highest for RSW. The blood levels of anthraquinone metabolites between rhubarb and wine-fried rhubarb were comparable.

Keywords: Rheum. palmatum, processing, wine-processing, emodin, aloe-emodin, rhein, chrysophanol

壹、前言

大黃為 *Rheum palmatum* 或 *R. officinale* (Polygonaceae) 之根或根莖。市場品多宣稱為 *R. palmatum* (北大黃)。其功能為下腸胃積滯，瀉血分實熱，下瘀血，行水。效用為治宿食停滯、下痢、瘀血、經閉、水腫、濕熱、發黃等(1)。服用少量為健胃劑及腸收斂劑，常用於消化不良、水瀉；較大量則為瀉下劑，瀉後即呈收斂作用，適用於臨時性便秘。此外更重要的是，近年來藥理研究發現，大黃及其成分具抗菌、抗真菌、抗病毒、抗腫瘤、降血脂、抗炎等優越生物活性(2-7)。

大黃除切片生用之外，有酒大黃、焦大黃及熟大黃等炮製品(8)。過去對中藥炮製的研究，大多採化學方法與藥理方法。本計畫擬採化學方法與藥品動力學方法針對大黃探討酒製前後成分吸收之改變，並進行指紋圖譜之建立。

大黃之瀉下作用主要源自於 anthraquinones，以 sennoside A, B, C, D, E, F 及 rhein 作用最強，emodin、aloe-emodin 次之。抗菌作用之主要活性成分亦為 anthraquinones，其中 rhein、emodin、aloe-emodin 作用最強。有關抗腫瘤活性，動物實驗顯示 rhein 可抑制 Ehrlich 腹水、emodin 可抑制乳腺癌(4-6)。若將大黃藥材經酒製之後，其水煎劑中活性成分的改變如何，成分吸收之改變如何，都是臨床上極為重要的問題。

大黃之主要活性成分包括配醣體與非醣基，此計畫擬以高效液相層析法進行活性成分定量(9-13)。定量分兩部分進行，一組直接定量 sennoside A, B、rhein、emodin、aloe-emodin 等成分。另一組經酸水解後，定量 rhein、emodin、aloe-emodin 等成分。與前人之研究相比，本計畫增加酸水解後之定量，希望能更準確掌握其中配醣體類成分之含量。

因活性成分 sennoside A, B 及 rhein 8-glucoside 為配醣體，於大腸中為細菌水解為非醣基後方能吸收(14-16)。因此本計畫擬以大白鼠糞便分別溫孵大黃、酒大黃水煎劑，以瞭解其中配醣體活性成分於腸內代謝情況之異同。最後以大白鼠為模型，進行體內吸收實驗，以瞭解大黃、酒大黃水煎劑口服之後，活性成分及其結合態代謝物於血中動力學行為上之差異。因結合代謝常是多酚類化合物的主要生理歷程，本研究室對 emodin 已完成了於兔體及大白鼠之代謝動力學(17)，發現血中主要存在著 emodin glucuronides/sulfates。

基於過去幾年本研究室對化橘紅、甘草炮製之研究經驗，期望藉此研究能夠以科學證據，針對酒製大黃所產生的成分及吸收之改變，釐清炮製之學理基礎，提供臨床應用之參考，同時並建立原藥材與酒大黃之指紋圖譜，提供中藥品質規格化之參考。

貳、材料與方法

一、實驗材料

(一) 試藥

Chrysophanol (大黃酚)、rhein (大黃酸) 及 2-methylanthraquinone 購自 Aldrich Chemical Company Inc. (USA)。Emodin (大黃素) 購自 Carl Roth。Aloe-emodin (蘆薈大黃素) 及 tetraglycol 購自 Sigma Chemical Company (St Louis MO, U.S.A.)。Dmethylsulfoxide (DMSO) 及 sodium hydroxide 購自 Merck Company (Germany)。Potassium dihydrogenphosphate 購自 Wako Pure Chemical Industries, Ltd. (Osaka, Japan)。Phosphoric acid 購自 Riedel-deHaen (Germany)。Acetonitrile、methyl alcohol 及 ethyl acetate (HPLC grade) 購自 Mallinckrodt Baker Inc. (NJ, U.S.A.; LC Grade)。二次蒸餾水由 Milli-Q plus water 純水系統製造 (Millipore Bedford, MA, USA)。

(二) 動物

Sprague-Dawley 大白鼠

(三) 北大黃藥材

係由勝昌製藥廠股份有限公司所提供，且生大黃、熟大黃及酒大黃係採用同一批藥材自行炮製。

二、實驗方法

(一) 大黃藥材基原鑑定

1. 外部形質鑑別

利用五官檢查法再配合立體顯微鏡觀察。

2. 切片組織圖之操作方法

利用徒手切片法材料進行橫切 (Transverse section T.S.)、放射性縱切 (Radial longitudinal section T.L.S.) 等，切取近 10μ 之薄片檢體置於載玻片上，先以 chloral hydrate solution 清除細胞內含物後，再滴加各種不同化學試劑，如 phloroglucinol solution 與 hydrochloric acid 進行木化反應，或滴加 sudan III solution 進行木栓化反應，或利用 Schultze's 與 KOH maceration method 將材料予以解離，最後以 glycerin-water (1:1) 混合溶液將檢體封鎖，蓋上蓋玻片，置於顯微鏡下，先用低倍鏡檢查其輪廓，再以高倍鏡觀

察各個組織之特徵，並以顯微測微計測量各組織或細胞之大小。

(二) 大黃之酒製

1. 生大黃

取北大黃乾燥根莖，揀去雜質，水洗，撈出，以濕毛巾包覆潤透 10 小時以上，以南剪切成 3~5 mm 厚片，置於烘箱，以 40°C 烘乾至恆重。

2. 酒大黃

取生大黃片，加黃酒拌勻，悶透，置鍋內用文火炒乾，置於烘箱，以 40°C 烘乾至恆重，取出放涼每 100 g 大黃片，用黃酒 10 g 及逆滲透水 1 L。

3. 熟大黃

取生大黃片，加黃酒拌勻，悶透至酒吸盡為度，置於竹製蒸籠中，加熱蒸透至內外均呈黑色，置於烘箱，以 40°C 烘乾至恆重，取出放涼，每 100 g 大黃片，用黃酒（台灣煙酒公賣局）30 g。

(三) 生大黃、熟大黃與酒大黃水煎劑之製備及層析指紋圖譜之建立

1. 生大黃、酒大黃、熟大黃水煎劑之製備

分別秤取生大黃、酒大黃、熟大黃藥材各 5 克，各自加入 100 mL 水，於室溫下浸泡 15 分鐘使組織潤透，置於有石棉網的瓦斯爐上，直火加熱，沸騰後以小火煎煮至體積略少於 50 mL，趁熱過濾，待冷卻後，再以水定容至 50 mL。

2. 生大黃、酒大黃、熟大黃水煎劑指紋圖譜之建立

分別取生大黃、酒大黃、熟大黃水煎劑 300 μ L，各自加入 700 μ L 甲醇溶液，於旋渦震盪器上混合均勻，以 9,860 g 離心 15 分鐘，取其上清液，經微孔過濾器過濾後，取 20 μ L 濾液注入 HPLC 分析。

3. 高效液相層析之分析條件

層析管：Cosmosil 5C18-AR II，5 μ m，4.6 \times 250 ID mm

移動相：CH₃CN---A 0.1% H₃PO₄---B

Time	A	B
0	17	83
30	28	72
60	80	20
70	17	83

流 速：0.7 mL/min

檢測波長：220 nm 250 nm

(四) 生大黃、熟大黃與酒大黃水煎劑檢品中活性成分之定量

1. 生大黃、熟大黃及酒大黃水煎劑檢品之製備

分別秤取生大黃、熟大黃及酒大黃藥材各 15 g，各自加入 300mL 水，於室溫下浸泡 15 分鐘使之浸潤後，直火加熱，沸騰後以小火煎煮至體積略少於 30 mL，趁熱過濾，待冷卻後，再以水定容至 30 mL，並以 HPLC 進行 aloe-emodin、rhein、emodin 及 chrysophanol 等成分之定量分析。

2. 檢量線之繪製

取上述配製好濃度為 0.5 mg/mL 之 aloe-emodin、rhein、emodin、chrysophanol，及濃度為 0.05 mg/mL 之 2-Methylantraquinone 貯存溶液來進行檢量線標準溶液之製備。

取適量貯存溶液，加入適量之內標準甲醇溶液，再以甲醇稀釋使 aloe-emodin 標準溶液之濃度為 1.2、2.5、5.0、10.0、20.0、40.0 及 50.0 μ g/mL，rhein 為 6.2、12.5、25.0、50.0、100.0、150.0 及 200.0 μ g/mL，emodin 為 1.2、2.5、5.0、10.0、20.0、40.0 及 50.0 μ g/mL，chrysophanol 為 1.2、2.5、5.0、10.0、20.0、40.0 及 50.0 μ g/mL，2-Methylantraquinone 為 5.0 μ g/mL。其中 20 μ L 經 HPLC 分析後，所得標準品與內標準之波峰面積比值，與其各標準品之濃度進行直線迴歸，求得各成分之檢量線方程式。

3. 高效液相層析儀 (HPLC) 之分析條件

層析管：Cosmosil 5C18-AR II，5 μ m，4.6 \times 250 ID mm

移動相：CH₃CN---A 0.1% H₃PO₄---B

Time	A	B
0	50	50
10	60	40
15	85	15
20	85	15
25	50	50

流 速：0.9 mL/min

檢測波長：250 nm

內標準品：2-Methylantraquinone (50.0 μ g/mL)

4. 生大黃、酒大黃、熟大黃水煎劑中 aloe-emodin、rhein、emodin、chrysophanol 之定量分析：

取水煎劑 1.5 mL，加入 1 mL 內標準甲醇溶液 ($50 \mu\text{g/mL}$)，以甲醇定容至 10 mL，振盪混合均勻，離心 15 分鐘 (9,860g)，取其上清液，經微孔過濾器 ($0.45 \mu\text{m}$) 過濾後，取 $20 \mu\text{L}$ 濾液注入 HPLC 分析，以檢品中 aloe-emodin、rhein、emodin 及 chrysophanol 與內標準之波峰面積比值代入各成分之檢量線方程式，求出檢品中 aloe-emodin、rhein、emodin 及 chrysophanol 之含量。

5. 生大黃、酒大黃、熟大黃水煎劑中 aloe-emodin、rhein、emodin、chrysophanol 配醣體之定量分析：

(1) 生大黃、熟大黃及酒大黃水煎劑之酸水解

分別取 25 mg 之抗壞血酸粉末於棕色磨砂玻璃試管中，加入 1 mL 之水煎劑，再加入 1 mL 1.2 N 鹽酸溶液，塞以瓶蓋，振盪均勻後，置於水浴鍋中以 80°C 加熱 30 分鐘及 4 小時後，取出，放冷。

(2) 定量方法

取經酸水解後之水煎劑 1.5 mL，加入 0.5 mL 內標準甲醇溶液 ($50.0 \mu\text{g/mL}$)，以甲醇定容至 5 mL，振盪混合均勻，離心 15 分鐘 (9,860g)，取其上清液，經微孔過濾器 ($0.45 \mu\text{m}$) 過濾後，取 $20 \mu\text{L}$ 濾液注入 HPLC 分析，以檢品中 aloe-emodin、rhein、emodin 及 chrysophanol 與內標準之波峰面積比值代入各成分之檢量線方程式，求出水解後檢品中 aloe-emodin、rhein、emodin 及 chrysophanol 之總含量。經減去水煎劑中水解前已定量出之非醣體 aloe-emodin、rhein、emodin 及 chrysophanol，即為其配醣體之含量。其中 chrysophanol 以水解 30 分鐘之水煎劑進行配醣體定量，aloe-emodin、rhein、emodin 以水解 4 小時之水煎劑進行配醣體定量。

6. 分析系統及方法之確效：

(1) 精密度 (Precision)

將不同濃度之 aloe-emodin、rhein、emodin 及 chrysophanol 標準溶液，於同日內晨、午、晚及連續三日之異日間各進行一次層析，然後將所波峰面積比值代入先前獲得的迴歸直線方程式，求得每次的實測濃度值，再分別求其平均值 (mean)、標準偏差 (standard deviation, S.D.) 及變異係數 (coefficient of variation, C.V.)。

(2) 靈敏度 (Sensitivity)

將 aloe-emodin、rhein、emodin 及 chrysophanol 標準品濃度一再稀釋，直至其波峰與雜訊之比值為 3 時之濃度為其偵測極限 (LOD, Limit of detection)。

(3) 準確度 (Accuracy)

三次同日內及三次異日間實測所得平均濃度與真正濃度間之相對誤差 (relative error) 表示之。

(4) 回收率 (Recovery)

取已測定 aloe-emodin、rhein、emodin 及 chrysophanol 含量之大黃水煎劑檢品 1.5mL 各三份，分別加入 1mL 內標準甲醇溶液 (2-Methyanthraquinone, 50.0 μ g/mL)，再加入適量三種已知濃度之標準品溶液，最後以甲醇定容至 10 mL，振盪混合均勻，高速離心 15 分鐘 (9,860g)，然後分別層析定量，將計算所得之增加量除以已標準品之添加量即為回收率。

(五) 體外糞便試驗

1. 人工腸液之製備

取磷酸二氫鉀 6.8045 g 溶於 250 mL 水中，再加入 0.2 N 氫氧化鈉溶液 190 mL 及水 400 mL，用 0.2 N 氫氧化鈉溶液調節 pH 至 7.50 ± 0.1 後，加水定容至 1 L。

2. 糞便懸浮液之製備

取未進行實驗之動物所排遺的新鮮糞便，加入人工腸液，以 1:3 之比例混合後利用果汁機打碎混勻，再以紗布過濾後備用。

3. 大白鼠糞便標準溶液之製備

取上述配製好濃度為 1.0 mg/mL 之 aloe-emodin、rhein、chrysophanol 及濃度為 2.0 mg/mL 之 emodin 貯存溶液，進行標準溶液之製備。

取適量貯存溶液，以甲醇稀釋使標準溶液之濃度 aloe-emodin 為 3.1、6.2、12.5、25.0、50.0、100.0 及 200.0 μ g/mL，rhein 為 6.2、12.5、25.0、50.0、100.0、200.0 及 400.0 μ g/mL，emodin 為 6.2、12.5、25.0、50.0、100.0 及 200.0 μ g/mL，chrysophanol 為 9.4、18.8、37.5、75.0、150.0 及 300.0 μ g/mL。

取 60 μ L 標準溶液及 540 μ L 大白鼠糞便懸浮液，製備成 aloe-emodin

濃度為 0.3、0.6、1.2、2.5、5.0、10.0 及 20.0 $\mu\text{g/mL}$ ，rhein 為 0.6、1.2、2.5、5.0、10.0、20.0 及 40.0 $\mu\text{g/mL}$ ，emodin 為 0.6、1.2、2.5、5.0、10.0 及 20.0 $\mu\text{g/mL}$ ，chrysophanol 為 0.9、1.9、3.8、7.5、15.0 及 30.0 $\mu\text{g/mL}$ 之大白鼠糞便標準溶液。

4. 檢量線之繪製

將上述各種不同濃度之大白鼠糞便標準溶液 600 μL ，加入 0.1 N 鹽酸 100 μL ，混合均勻，再以 700 μL 含內部標準品之乙酸乙酯 (4.0 $\mu\text{g/mL}$ 2-methylanthraquinone) 萃取，用試管震盪器震盪 10 秒後以 9,860 $\times g$ 高速離心 15 分鐘。取乙酸乙酯層，用氮氣吹乾後，加入 50 μL 甲醇，於超音波震盪器震盪，使之完全溶解後，再一次以 9,860 $\times g$ 高速離心 15 分鐘，取 10 μL 供 HPLC 分析。

將分析所得之標準品與內部標準品之波峰面積比值，分別與其各標準品之濃度進行線性迴歸，求得各成分之檢量線方程式。

5. 高效液相層析之分析條件

儀器：幫浦 HITACHI L-6200 pump (Japan)

紫外光偵測器：HITACHI L-3000 Photo Diode Array Detector (Japan)

自動注射器：SHIMADZU SIL 9A autosampler (Japan)

分析管柱：Cosmosil 5C18-AR II，5 μm ，4.6 \times 250 I.D. m.m.

保護管柱：MetaGuard 4.6 mm Polaris 5 μC_{18} - A

移動相：0.1% H_3PO_4 --- A CH_3CN --- B

Time	A	B
0	50	50
25	15	85

流速：1 mL/min

檢測波長：250 nm

內部標準品：2-methylanthraquinone

6. 分析系統及方法之確效

(1) 精密度 (precision)

將不同濃度之 aloe-emodin、rhein、emodin 及 chrysophanol 大白鼠糞

便標準溶液，分別於同日內晨、午、晚及連續三日之異日間各進行分析，並以獲得之線性迴歸方程式求得每次之實測濃度。以三次同日內及三次異日間實測濃度分別求其平均值 (mean)、標準偏差 (standard deviation; S.D.) 及變異係數 (coefficient of variation; C.V.)。

(2) 準確度 (accuracy)

以三次同日內及三次異日間實驗所得之平均濃度與理論濃度之相對誤差 (relative error; R.E.) 表示之。

7. 生大黃、熟大黃及酒大黃水煎劑受大白鼠糞便細菌作用之比較

將生大黃、熟大黃及酒大黃水煎劑檢品，以 HPLC 分析定量，此三種大黃中所含 aloe-emodin、rhein、emodin 及 chrysophanol 等成分之含量 ($\mu\text{g/mL}$) 如下：

Constituents	生大黃	熟大黃	酒大黃
Aloe-emodin	18.6	19.6	10.9
Rhein	96.3	102.7	57.5
Emodin	21.3	29.5	16.4
Chrysophanol	14.0	16.9	11.9

分別取上述已知各成分含量之生大黃、熟大黃及酒大黃水煎煮液 1.38 mL，各自加入大白鼠糞便懸浮液 12.42 mL，以攪拌器混合均勻後，用微量分注器分別取 600 μL 混合液置於試管中，栓上血清塞並用針筒將空氣移除，再置於 37°C 震盪水浴槽中，以 100 rpm 之速度反應，並於 0、1、3、6、9、12 及 24 小時於每組各取 3 管，立即貯存於 -30°C 冷凍櫃中停止反應，待 HPLC 分析。

8. 檢品分析

將上述大白鼠糞便懸浮液檢品解凍後，加入 0.1 N 鹽酸 100 μL ，混合均勻，再以 700 μL 含內部標準品之乙酸乙酯 (4.0 $\mu\text{g/mL}$ 2-methylanthraquinone) 萃取，用試管震盪器震盪 10 秒後以 9,860 \times g 高速離心 15 分鐘。取乙酸乙酯層，用氮氣吹乾後，加入 50 μL 甲醇，於超音波震盪器震盪，使之完全溶解後，再一次以 9,860 \times g 高速離心 15 分鐘，取 10 μL 供 HPLC 分析。

9. 數據處理

取 10 μL 上述檢品注入 HPLC 分析，將檢品中分析所得之 aloe-emodin、

rhein、emodin 及 chrysophanol 波峰面積分別與內部標準品之波峰面積求得比值，帶入各自之檢量線方程式，即可求得生大黃、熟大黃及酒大黃藥材水煎劑檢品於大白鼠糞便溶液中此些成分之濃度。

(六) 動物口服生大黃、熟大黃與酒大黃水煎劑於鼠體內之藥品動力學

1. 水解結合態代謝物酵素之製備

(1) β -Glucuronidase 溶液

取 β -Glucuronidase (666,400 unit/g, typeB-1) 75 mg，以 pH5.0 緩衝溶液溶解定容至 50 mL，配製成濃度為 1000 unit/mL 之貯存溶液，貯存於 -30°C 備用。

(2) Sulfatase 溶液

取 Sulfatase (20,000 unit/g, typeH-1) 2.5 g，以 pH5.0 緩衝溶液溶解定容至 50 mL，配製成濃度為 1000 unit/mL 之貯存溶液，貯於 -30°C 備用。

2. 血清標準溶液之製備

取適量貯存溶液，以甲醇稀釋使 aloe-emodin 標準溶液之濃度為 0.8、1.6、3.1、6.3、12.5、25.0、50.0 及 100.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，rhein 為 7.8、15.6、31.3、62.5、125.0、250.0 及 500.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，emodin 為 1.6、3.1、6.3、12.5、25.0、50.0 及 100.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，chrysophanol 為 0.8、1.6、3.1、6.3、12.5、25.0、50.0 及 100.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。分別取 100 μL 上述標準溶液，加入 900 μL 空白血清，得 aloe-emodin 濃度為 0.08、0.16、0.31、0.63、1.25、2.50、5.00 及 10.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，rhein 為 0.78、1.56、3.13、6.25、12.50、25.00 及 50.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，emodin 為 0.16、0.31、0.63、1.25、2.50、5.00 及 10.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，chrysophanol 為 0.08、0.16、0.31、0.63、1.25、2.50、5.00 及 10.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之血清標準溶液。

3. 檢量線之繪製

取 100 μL 血清標準品溶液，加 50 μL 緩衝溶液、50 μL 抗壞血酸 (100 mg/mL)，振盪混合均勻，再以 200 μL 含內標準 (0.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 2-Methylanthraquinone) 之乙酸乙酯萃取，用試管振盪器振盪均勻後，高速離心 (9,860g) 15 分鐘，取乙酸乙酯層，用氮氣吹乾後，以 50 μL 乙醇溶解，取 20 μL 供 HPLC 分析。

4. 給藥方法與採血

(1) 動物

選用雄性 Sprague-Dawley 大白鼠十八隻，體重介於 250~440 g，實驗前禁食 12 小時。

(2) 給藥

依大白鼠體重，每公斤給予 2 克原生藥，即 4 mL/kg 水煎劑 (0.5 克/mL)，經胃管灌食給藥。

(3) 採血

於給藥後 10、30、60、120、180、300、480 及 720 分鐘，以心臟穿刺方式採血 0.8 mL。將血液檢品離心 (9,860g) 15 分鐘，取上層血清貯存於 -30°C，俟後分析。

5. 血清檢品之前處理及分析

(1) 血清中 aloe-emodin, rhein, emodin, chrysophanol 之 glucuronides 及 sulfates 之定量

(a) aloe-emodin, rhein, emodin, chrysophanol 之 glucuronides 之定量取 100 μ L 血清檢品溶液，加 β -glucuronidase 溶液 50 μ L (溶於 pH5.0 之緩衝溶液，含 β -glucuronidase 1000 units/mL)、及抗壞血酸 50 μ L (100 mg/mL)，於試管振盪器上充分混合後，於 37°C 之恆溫水槽振盪 4 小時。

(b) aloe-emodin, rhein, emodin, chrysophanol 之 sulfates 之定量取 100 μ L 血清檢品溶液，加 sulfatase 溶液 50 μ L (溶於 pH5.0 之緩衝溶液，含 sulfatase 1000 units/mL)、及抗壞血酸 50 μ L (100 mg/mL)，於試管振盪器上充分混合後，於 37°C 之恆溫水槽振盪 2 小時。

前述(1)、(2)反應後，以 200 μ L 含內標準 (0.6 μ g/mL, 2-Methylanthraquinone) 之乙酸乙酯萃取，用試管振盪器振盪均勻後，高速離心 (9,860g) 15 分鐘，取乙酸乙酯層，用氮氣吹乾後，以 50 μ L 乙醇溶解，取 20 μ L 供 HPLC 分析。

(2) 血清中自由態 aloe-emodin, rhein, emodin, chrysophanol 之分析

取 100 μ L 血清檢品溶液，加 pH5.0 之緩衝溶液 50 μ L 及抗壞血酸 50 μ L 100 mg/mL，於試管振盪器上混合均勻後，高速離心 (9,860g) 15 分鐘，取乙酸乙酯層，用氮氣吹乾後，以 50 μ L 乙醇溶解，取 20 μ L 供 HPLC 分析。

6. 高效液相層析儀 (HPLC) 之分析條件

層析管：Cosmosil 5C18-AR II，5 μ m，4.6 \times 250 ID mm

移動相：CH₃CN---A 0.1% H₃PO₄---B

Time	A	B
0	55	45
10	60	40
15	85	15
20	85	15
25	55	45

流 速：1 mL/min

檢測波長：250 nm

內標準品：2-Methylantraquinone ($0.6 \mu\text{g/mL}$)

7. 分析系統及方法之確效

(1) 精密度 (Precision)

將各濃度之 aloe-emodin, rhein, emodin 及 chrysophanol 血清標準溶液，分別於同日內早、午、晚及連續三日之異日間各進行一次層析，並以獲得之檢量線方程式，求得每次的實測濃度值。以三次同日內及三次異日間實測濃度分別求其平均值 (mean)、標準偏差 (standard deviation, S.D.) 及變異係數 (coefficient of variation, C.V.)。

(2) 靈敏度 (Sensitivity)

將 aloe-emodin, rhein, emodin 及 chrysophanol 標準品濃度一再稀釋，直至其波峰與雜訊之比值為 3 時之濃度為其偵測極限 (LOD, Limit of detection)。

(3) 準確度 (Accuracy)

三次同日內及三次異日間實測所得平均濃度與真正濃度間之相對誤差 (relative error) 表示之。

(4) 回收率 (Recovery)

將 50.0 、 25.0 、 $5.0 \mu\text{g/mL}$ 等三種濃度之 aloe-emodin, rhein, emodin 及 chrysophanol 標準品溶液及 400.0 、 200.0 、 $50.0 \mu\text{g/mL}$ 三種濃度之 rhein 標準品溶液，分別加入空白血清及水中，使成 5.0 、 2.5 、 $0.5 \mu\text{g/mL}$ 之 aloe-emodin, rhein, emodin 及 chrysophanol 及 40.0 、 20.0 、 $5.0 \mu\text{g/mL}$ 之 rhein 等高、中、低濃度各三份，所測得之血清標準溶液之波峰面積比值除以等濃度之水標準溶液之波峰面積比值，即為回收率。

8. 數據分析

使用 WINNONLIN (version 3.0; Pharsight Corp., U.S.A.) 計算動力學參數，利用 ANOVA 進行統計分析。

參、結果與討論

一、大黃藥材之採購及其基原鑑定

大黃藥材切片，經顯微鏡檢後，與文獻比對，確認為蓼科 (Polygonaceae) 植物掌葉大黃 *Rheum palmatum* L. 又名為北大黃。結果如附圖 Fig.1-1。

二、大黃之酒製

(一) 生大黃之修治

依據文獻記載，大黃的炮製法為除去雜質，洗淨，潤透，切厚片或塊，晾乾。在藥材炮製通則中所謂的切製品，厚片為 2~4 mm，薄片為 1~2 mm，極薄片在 0.5 mm 以下。在此，將大黃乾燥根莖切成 3~5 mm 厚片。藥材切製時，除鮮切、乾切外，須經浸潤使其柔軟者，應少泡多潤，防止有效成分流失，切後應及時乾燥，保證質量。故切片後置於烘箱以 40°C 烘乾至恆重。

(二) 酒大黃之炮製

取切製完成之生大黃，依中華人民共和國藥典記載加入黃酒炮製 (19)。藥材之酒製法為取淨藥材，加酒拌勻，悶透，置鍋內，用文火炒至規定的程度，取出，放涼。100 g 淨藥材，用黃酒 10 g。炒時只要炒至乾或藥材表面稍變色即可。若依文獻的記載，黃酒的量不足以浸潤藥材，故另加了等量的水稀釋以增加液體輔料的量。

(三) 熟大黃之炮製

熟大黃為取淨藥材，加酒拌勻，悶潤至酒吸盡為度，燉或蒸至內外均呈黑色。蒸的時間約 5~6 小時，使用的工具是竹製蒸籠。為確保質量一致，故置於烘箱以 40°C 烘至恆重。

三、大黃藥材與酒大黃水煎劑之製備及層析指紋圖譜之建立

(一) 高效液相層析法之建立

本研究為了解生大黃、熟大黃及酒大黃，經不同炮製法後之成分組成及含量上的差異，故利用高效液相層析法，建立三種水煎劑之層析指紋圖譜，可作為欲定量活性成分含量變化之參考。

由於大黃本身成分相當複雜，且活性成分之極性差異頗大，故採用梯度沖提的方式進行分離，其分離效果良好。因水煎劑中極性成分佔大部分，故層析初期採用含水量較高之溶媒系統，整個分析過程費時 70 分鐘，配合光二極體陣列檢測器，可知活性成分之波峰位置。此層析法所建立之條件如前章所述，層析指紋圖譜如 Fig. 2-1 及 Fig. 2-2 所示。由 Fig. 2-1 於波長 220 nm 所偵測之層析指紋圖譜前 20 分鐘可明顯看出三種水煎劑所含不同高極性成分，顯示大黃藥材經不同炮製後，除了成分改變外，含量上亦有不同。

四、大黃、熟大黃與酒大黃水煎劑檢品中活性成分之定量

(一) Aloe-emodin、rhein、emodin 及 chrysophanol 於甲醇溶液中之定量分析方法

1. 高效液相層析法之建立

本研究利用 HPLC 方法定量生大黃、熟大黃及酒大黃水煎劑中 aloe-emodin, rhein, emodin 及 chrysophanol 之含量，由於四種有效成分之極性相差頗大，所以採用梯度沖提的方式，波峰分離效果良好，檢品可於 25 分鐘內完成分析，層析圖如 Fig.4-1 所示。內部標準品 2-methylantraquinone 於層析圖中出現之位置亦無任何干擾。

2. Aloe-emodin、rhein、emodin 及 chrysophanol 之檢量線

為了進行此定量分析，因此分別製作 aloe-emodin、rhein、emodin 及 chrysophanol 之檢量線，以各標準品與內標之波峰面積比值為 Y 軸，各標準品之濃度為 X 軸進行直線迴歸，求得各成分之檢量線方程式及相關係數。結果如 Table 1-1 顯示此四種成分在下列濃度範圍內於甲醇溶液中均有良好之線性關係。

3. 確效試驗

為了確認此定量分析方法的精密度 (precision) 及準確度 (accuracy)，分別進行了同日內 (intraday) 及異日間 (interday) 的精確性比較。結果顯示定量 aloe-emodin、rhein、emodin 及 chrysophanol 之方法在同日內及異日間皆有良

好之精確性，其變異係數 (C.V.) 值均小於 10%。確效結果顯示本分析系統之精密度及準確度皆良好。

(二) 生大黃、熟大黃、酒大黃水煎劑中 Aloe-emodin, rhein, emodin 及 chrysophanol 之定量結果

三種大黃水煎劑中，Aloe-emodin, rhein, emodin 及 chrysophanol 之定量結果，如 Table 1-2 所示。結果顯示此四種成分之含量皆以熟大黃最多，其次為生大黃，酒大黃最少。

五、體外糞便試驗

(一) Aloe-emodin、rhein、emodin 及 chrysophanol 於糞便懸浮液中之定量分析方法

1. 高效液相層析法之建立

本研究為了解生大黃、熟大黃及酒大黃水煎煮液中 aloe-emodin、rhein、emodin 及 chrysophanol 等成分受大白鼠糞便懸浮液中作用之變化情形，故建立了一個快速且精確之高效液相層析法以進行定量。

由於大黃本身成分相當複雜且此四種成分之極性差異頗大，故採用梯度沖提的方式進行分離，其分離效果良好。內部標準品 2-methylanthraquinone 於層析圖中出現之位置亦無任何之干擾，aloe-emodin、rhein、emodin、chrysophanol 及內部標準品之滯留時間分別為 8.9、9.7、15.8、23.4 及 19.6 分鐘，整個分析過程只需時 25 分鐘即可完成分析。此層析法所建立之條件如前章所述，層析圖如 Fig. 5-1 所示。

2. Aloe-emodin、rhein、emodin 及 chrysophanol 之檢量線

為了進行此定量分析，因此分別製作 aloe-emodin、rhein、emodin 及 chrysophanol 之檢量線，其製作方法如前章所述，結果如 Table 2-1 可知此四種成分在下列濃度範圍內於大白鼠糞便懸浮液中均有良好之線性關係。

3. 確效試驗

為了確認此定量分析方法的精密度 (precision) 及準確度 (accuracy)，分別進行了同日內 (intraday) 及異日間 (interday) 的精確性比較。結果顯示定量 aloe-emodin、rhein、emodin 及 chrysophanol 之方法在同日內及異日間皆有良好之精確性，其變異係數 (C.V.) 值均小於 6%。

(二) 生大黃、熟大黃及酒大黃水煎煮液中 aloe-emodin、rhein、emodin 及 chrysophanol 受大白鼠糞便細菌作用之比較

本實驗室利用同一批生大黃自行炮製而得之熟大黃、酒大黃，以 HPLC 定量其中所含 aloe-emodin、rhein、emodin 及 chrysophanol 等成分，結果顯示此四種成分之含量以熟大黃最多，其次為生大黃，酒大黃最少。

將已知 aloe-emodin、rhein、emodin 及 chrysophanol 等成分含量之生大黃、熟大黃及酒大黃水煎煮液分別以大白鼠糞便細菌溫孵，其結果如 Table 2-2~5 及 Fig. 5-2~5 所示。經糞便細菌作用後，熟大黃、生大黃及酒大黃中 aloe-emodin 之含量由 1.96、1.86 及 1.09 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 增為 11.2、9.4 及 7.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ；rhein 之含量由 10.27、9.63 及 5.75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 增為 26.1、19.0 及 18.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ；emodin 之含量由 2.95、2.13 及 1.64 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 增為 12.9、9.1 及 10.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ；chrysophanol 之含量由 1.69、1.40 及 1.19 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 增為 17.8、12.5 及 14.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，推測此四種成分於大黃藥材內除非糖體外，尚有其配糖體化合物。

許多研究報告顯示大黃藥材中含有 sennosides A & B, rhein 8-glucoside, aloe-emodin 8-glucoside 及 chrysophanol-8-O- β -D-glucopyranoside (chrysophanein)。sennosides A & B 及 rhein 8-glucoside 經糞便懸浮液中之腸道細菌作用的影響，而轉變成 rhein，aloe-emodin 8-glucoside 及 chrysophanein 亦可能經由腸內菌之作用，而分別轉變成甘元 aloe-emodin 及 chrysophanol，故 rhein 和 chrysophanol 之量均增加，且此作用很快，於一接觸糞便時含量最高。之後，其含量隨時間作用之增長而下降，顯示此四種化合物全為腸菌所降解。

此外，反應前存在於大黃中此四種成分之含量高低依次為 rhein、emodin、aloe-emodin 及 chrysophanol，反應後，chrysophanol 之含量僅次於 rhein，極可能因為大黃藥材中含較多量之 chrysophanein，經腸內菌作用後快速被轉變成 chrysophanol，或因 chrysophanol 於腸內菌中降解之程度較低所導致。

以往大黃之研究多只著重於大黃藥材個別成分之定量，而忽略了服用後於體內之轉變情形，如大黃藥材中之 sennosides A & B 於體內會先轉變成 rhein anthrone 再進一步轉變為 rhein。

另一方面，上述曾提及此四種成分之含量以熟大黃最多，經腸內菌作用後仍如此，酒大黃之四種成分皆最少。

(三) Aloe-emodin、rhein、emodin 及 chrysophanol 受大白鼠糞便中細菌的降解作用

為了進一步了解 aloe-emodin、rhein、emodin 及 chrysophanol 此四種成分於

大白鼠腸內菌中作用時之降解情形，由 Fig. 5-6 及 Table 2-6 之結果可得知，此四種成分分別以大白鼠腸內菌作用時，在 0-3 小時 emodin 降解速率較慢，而 aloe-emodin、rhein 及 chrysophanol 三者則相差不多。之後於 24 小時內，chrysophanol 降解最慢，而 rhein 明顯較快些。

六、動物口服大黃與酒大黃水煎劑之藥品動力學

(一) Aloe-emodin、rhein、emodin 及 chrysophanol 於鼠血清中之定量分析法

1. 高效液相層析法之建立

本研究為了解 aloe-emodin、rhein、emodin 及 chrysophanol 等成分於鼠體內吸收情形，故建立了一個快速且精確之高效液相層析法以進行定量。

分析方法主要依據本實驗室所開發之方法，血清檢品於脫氣及抗壞血酸保護下，分別以 sulfatase 及 glucuronidase 水解後，以含內標準之乙酸乙酯萃取游離態之蘆薈大黃素、大黃酸、大黃素及大黃酚，再以 HPLC 定量。此方法準確，再現性高且回收率佳。定量極限蘆薈大黃素為 $0.1 \mu\text{g/mL}$ ，大黃酸為 $0.8 \mu\text{g/mL}$ ，大黃素為 $0.2 \mu\text{g/mL}$ ，大黃酚為 $0.1 \mu\text{g/mL}$ 。

由於大黃本身成分相當複雜且此四種成分之極性差異頗大，加上鼠血清中易有干擾物質，故採用梯度沖提的方式進行分離，其分離效果良好。內部標準品 2-methylanthraquinone 於層析圖中出現的位置亦無任何干擾，aloe-emodin、rhein、emodin、chrysophanol 及內部標準品 2-methyanthraquinone 之滯留時間分別為 6.8、7.5、12.7、18.9 及 16.6 分鐘，整個分析過程只需 25 分鐘即可完成分析。層析圖如 Fig. 6-1 所示。

2. Aloe-emodin、rhein、emodin 及 chrysophanol 之檢量線

為了進行此定量分析，因此分別製作 aloe-emodin、rhein、emodin 及 chrysophanol 之檢量線，以各標準品與內標之波峰面積比值為 Y 軸，各標準品之濃度為 X 軸進行直線迴歸，求得各成分之檢量線方程式及相關係數。結果如 Table 3-1 顯示此四種成分在檢量線濃度範圍內於鼠血清中均有良好之線性關係。

3. 確效試驗

為了確認此定量分析方法的精密度 (precision) 及準確度 (accuracy)，分別進行了同日內 (intraday) 及異日間 (interday) 的確效顯示定量 aloe-emodin、rhein、emodin 及 chrysophanol 之方法在同日內及異日間皆有良好之精確性，其變異係數 (C.V.) 值均小於 10%。確效結果顯示本分析系統之精密度及準確度皆良好。

(二) 大黃水煎劑於鼠體內之藥物動力學

本研究以大白鼠為模型，探討三種大黃水煎劑中活性成分蘆薈大黃素、大黃酸、大黃素及大黃酚等成分於大白鼠體內之代謝動力學並加以比較。藉由分別投予相當於 2 g/kg 之生大黃、熟大黃及酒大黃水煎劑，於口服後各時間點，以心臟採血方式採得檢品，血清檢品經 sulfatase、glucuronidase 分別水解，定量鼠體內之自由態^{??}及其結合態代謝物之血中濃度，再比較三種大黃水煎劑之間吸收之差異。

口服三種大黃水煎劑後，鼠體內之自餘成分的血中自由態濃度甚微。各成分的血中結合態代謝物濃度以熟大黃水煎劑有較高之趨勢，酒大黃與生大黃較接近。口服三種大黃水煎劑後，所得之動力學參數，以 one-way ANOVA 比較其間之差異，除了口服熟大黃水煎劑之大黃酸硫酸結合態代謝物及大黃酚之硫酸結合態代謝物血峰濃度較高達統計上顯著差異外，其餘差異皆不明顯。三種水煎劑的定量結果顯示熟大黃所含之四種活性成分為三者中最高，其中又以大黃酸的含量為四種活性成分中最多，根據體外糞便試驗結果亦顯示，熟大黃水煎劑經大白鼠糞便細菌作用後，大黃酸的量亦顯著高於生大黃與酒大黃。顯示除了非糖體外，熟大黃水煎劑含有較多的大黃酸配糖體化合物。

口服三種大黃水煎劑後，血中蘆薈大黃素、大黃酸、大黃素及大黃酚等之代謝物平均血藥濃度經時變化如 Table 3-2~17 及 Fig. 6-2~21 所示。

綜合體外及體內之各項實驗顯示，大黃經炮製後，熟大黃水煎劑中的大黃酸及大黃酚的自由態及配糖體化合物均高於其他水煎劑，體內試驗顯示熟大黃水煎劑口服後，大黃酸硫酸結合態代謝物及大黃酚之硫酸結合態代謝物的血中最高濃度 C_{max} 顯著高於其他水煎劑。然而其他藥動學參數並無顯著差異。生大黃水煎劑與酒大黃水煎劑兩者之藥動學參數則較相近。

肆、結論與建議

本研究之目的為了解生大黃、熟大黃及酒大黃，經不同炮製後，成分組成及含量上是否有差異，故利用高效液相層析法，建立三種水煎劑之層析指紋圖譜，於波長 220 nm 所偵測之層析指紋圖譜前 20 分鐘可明顯看出三種水煎劑所含不同高極性成分，此部分結果顯示大黃藥材經不同炮製後，除了成分改變外，含量上亦有所不同。

大黃、熟大黃與酒大黃水煎劑檢品中活性成分之定量，三種大黃水煎劑中，蘆薈大黃素、大黃酸、大黃素及大黃酚之定量結果，顯示此四種成分之含量皆以熟大黃最多，其次為生大黃，酒大黃最少。大黃經不同炮製會造成其成分含量上之變化。

根據體外糞便試驗結果顯示，熟大黃水煎劑經大白鼠糞便細菌作用後，大黃酸的量顯著高於生大黃與酒大黃。顯示除了非糖體外，熟大黃水煎劑含有較多的大黃酸配糖體化合物。

口服三種大黃水煎劑後，鼠體內之自餘成分的血中自由態濃度甚微。各成分的血中結合態代謝物濃度以熟大黃水煎劑有較高之趨勢，酒大黃與生大黃較接近。

綜合體外及體內之各項實驗顯示，大黃經炮製後，熟大黃水煎劑的大黃酸及大黃酚的自由態及配糖體化合物均高於其他水煎劑，體內試驗顯示熟大黃水煎劑口服後，大黃酸硫酸結合態代謝物及大黃酚之硫酸結合態代謝物的血中最高濃度 C_{max} 顯著高於其他水煎劑。然而其他藥動學參數並無顯著差異。生大黃水煎劑與酒大黃水煎劑兩者之藥動學參數則較相近。吾人推測因口服大黃水煎劑後，動物間個體差異太大，因此隻數不夠多時，無法檢出差異。日後類似此種研究，建議採交叉設計，但須克服動物能否接受兩次全程抽血的難題。

誌謝

本研究計畫承蒙行政院衛生署中醫藥委員會，計畫編號 CCMP91-CT-106 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

伍、參考文獻

1. 中國藥材學，啟業書局，387-393
2. Fuzellier MC, Mortier F, Girard T, Payen J. Study of antibiotic properties of some anthraquinones using chromatographic microplates. *Ann Pharm Fr* 1981, 39; 313-318
3. Cyong JC, et. al Anti-Bacteriodes fragilis substance from rhubarb. *J Ethnopharmacol* 1987, 19; 279-283
4. Lu M, Chen QH, Studies of Chinese rhubarbXII. Effect of anthraquinone derivatives on the respiration and glycolysis of Ehrlich ascites carcinoma cells. *Acta Pharm Sin* 1980. 15:65-70
5. Lu M, Chen QH, Biochemical study of Chinese rhubarb XXIX. Inhibitory effects of anthraquinone derivatives on P338 leukaemia in mice. *J China Pharm Univ* 1989, 20: 155-157
6. Chang CJ, Ashendel CL. Chan TC, Geahlen RL, McLaughlin J, Waters DJ, Oncogene signal transduction inhibitors from Chinese medicinal plants. *Pure Appl. Chem* 1999, 71;1101-1104
7. Zhang JH, Zhang M, Clinical effects of rheum and captopril on preventing progression of chronic renal failure. *Chin Med J* 1990, 103: 788-93
8. 歷代中藥炮製法匯典，1986年，江西科學出版社
9. Sagara K, Oshima T and Yoshida T. Rapid and simple determination of sennoside A and B in RHEI RHIZOMA by ion-pair high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography* 1987; 403: 253-261 Sasaki K, Yamauchi K and Kuwano S. Metabolic activation of sennoside A in mice. *Plant Medica* 1979; 37: 370-378
10. Cheng DY, Wang JZ and Zhao XH. Analytical study on processing of Rheum palmatum L. by HPLC. *Chung-Kuo Chung Yao Tsa Chih-China Journal of Chinese Materia Medica* 1994; 19:538-539, 574
11. Sheu SJ and Lu CF. Determination of eighth constituents of hsiao-cheng-chi-tang by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography* 1995; 704: 518-523

12. Seto T, Yasuda I, Hamano T, Takano I, Kiyono SI, Nishijima M and Akiyama K. Determination method of sennoside A, sennoside B, rhein and rhein 8-glucoside in kampo or crude drug preparations and the comparison of these components in processed Rhubarb. *Natural Medicines* 1996; 50: 138-144
13. Lin YT, Huang CY and Wen KC. Determination of sennosides A and B in diet tea by HPLC. *Journal of Food and Drug Analysis* 1998; 6: 433-438
14. Dreessen M, Eyssen H and Lemli J. The metabolism of sennosides A and B by the intestinal microflora: in vitro and vivo studies on the rat and the mouse. *J. Pharm. Pharmacol.* 1981; 33: 679-681
15. Hattori M, Kim G, Motoike S, Kobashi K and Namba T. Metabolism of sennosides by intestinal flora. *Chem. Pharm. Bull.* 1982; 30: 1338-1346
16. Hattori M, Namba T, Akao T and Kobashi K, Metabolism of sennosides by human intestinal Bacteria. *Pharmacology* 1988; 36: 172-179
17. Liang JW, Hsiu SL, Wu PP, Chao PDL, Emodin Pharmacokinetics in Rabbits *Planta Medica* 1995; 61: 406-408
18. 中華人民共和國藥典，2000年一版，國家藥典委員會

[\(5-01 圖\)--CCMP91-CT-106.doc](#)