PG88BD-0024
RRPG88B00024(70.P)

計畫編號：DOH88-CM-053

行政院衛生署八十八年度委託研究計畫

新穎靈芝三帖類之製劑研究

委託研究成果報告

執 行 機 構 ：私立臺北醫學院
計 畫 主 持 人 ：許明照
研 究 人 員 ：邱惠苓
執 行 期 限 ：87 年 1 月 1 日至 88 年 6 月 30 日

＊＊本研究報告僅供參考用，不代表本署意見＊＊

目 錄

正文目錄 ---------- I
附圖目錄 ---------- I
附表目錄 ---------- I
中文摘要 ---------- II
英文摘要 ---------- III

前言 ---------- 1
材料與方法 ---------- 4
一、 材料 ---------- 4
二、 新穎靈芝三帖類之萃取與分離 ---------- 4
三、 分析發法之開發 ---------- 4
四、 溶解度試驗 ---------- 5
五、 靈芝三帖類萃取物的膠囊與錠片之製備 ---------- 5
六、 製劑之加速安定性試驗 ---------- 6
結果 ---------- 7
討論 ---------- 10
結論與建議 ---------- 12
參考文獻 ---------- 13

附圖目錄

圖一、靈芝三帖類萃取分離之流程 ---------- 16
圖二、Ganoderic acid B 的安定性試驗 ---------- 17
圖三、Ganoderic acid C_2 的安定性試驗 ---------- 18

附表目錄

表一、多二元醇脂肪酸的混合比例 ---------- 19
表二、多二元醇脂肪酸混合物與共溶媒的組合比例 ---------- 19

編號：CCMP88-RD-053

新穎靈芝三帖類之製劑研究

許明照

臺北醫學院　藥學研究所

摘要

本計畫之研究目的在於改善中藥的製劑劑型，以提高其成份的安定性，及增強中藥成份的生體可用率而加強其臨床的治療效果。本實驗選用靈芝單方的三帖類萃取物為模式中藥成份，使用生體可接受之助溶劑與共溶媒溶解成為加熱可溶的固體或半固體劑型，而後在熔融狀態下直接充填而製備成膠囊劑型。首先開發完成能有效分析靈芝三帖類及其可能降解產物的高效液相層析法，以進行靈芝三帖類膠囊製劑的安定性試驗。在靈芝三帖類的助溶實驗中發現，Gelucire 44/ 14，RH 40，及 RH 60 分別與 PEG 600 以一定比例 (2：3) 組合，再與靈芝三帖類以 1：9 的比例混合後，可使 Ganoderic acid B 及 Ganoderic acid C_2 完全溶解。傳統的固體硬膠囊與錠片以習用的澱粉、微晶纖維素與乳糖吸附熔融狀態的助溶萃取物後製備而得。由溶離試驗確定此些吸附於固體賦型劑的靈芝三帖類皆能迅速的於 10 分鐘內完全溶出，但其所需要的吸附量都相當大，尚須改進。最後調製助溶萃取物組合，趁其熔融時充填於適當膠囊中，以鋁箔包裝後將上述的膠囊劑型儲存於三種溫度下 (25, 37, 45 ℃)，在儲存期間定時取樣，以高壓液相層析法分析其指標成份之含量變化。結果顯示，使用 Gelucire 44/ 14 及 PEG 600 作為共溶媒的硬膠囊中，其 Ganoderic acid B 及 Ganoderic acid C_2 的含量較其他高些；然而，大多數處方 Ganoderic acid B 及 Ganoderic acid C_2 成份降解 10% 所需時間的有效期皆在一至二星期之間而已。

關鍵詞：靈芝三帖類，硬膠囊，安定性，生體可用率

CCMP88-RD-053

FORMULATION STUDY ON THE NOVEL TRITERPENOIDS ISOLATED FROM GANODERMA

Ming- Thau Sheu
Graduate Institute of Pharmaceutical Sciences
Taipei Medical College

ABSTRACT

The purpose of this study was to improve the dosage form by increasing the stability of active ingredients and enhancing its bioavailability as a way to strengthen clinical efficacy. Triterpenoids isolated from Ganoderma resinaceum were selected as model drugs with the use of pharmaceutically acceptable solubilizers and cosolvents to prepare heat-soluble solid or semi-solid dosage forms such as hard capsules or tablets. Initially, a valided HPLC method was developed to have an acceptable accuracy and precision as a method to assay all samples in the following study. The solubilization study revealed that when Gelucire 44/14、Cremmorphor RH-40、RH-60 at a ratio of 2:3 with respect to PEG 600 was able to completely solubilize Ganoderic acid B and C2 at a concentration of 10%. Solid dosage forms prepared with the adsorption of above formulation to these commonly-used excipients, such as lactose, starch , or MCC, was only able to become free-flow powder when a large quantity of them was employed. Although the dissolution of both was fast enough, the large quantity of excipient necessary for such a preparation made it become impractical in the application. Results of accelerated stability study using semi-solid filled in capsule as model sample showed that expiration date of Ganoderic acid B and C2 in all samples tested was only 1-2 weeks. Active ingredients carried by Gelucire 44/14 with PEG 600 system showed the best stability among all, but it was still not good enough for practical application.

Keywords : Ganoderma , Triterpenoids, Stability, Capsule, Bioavailability

壹、前言

自中藥科學化以來，繁複的中藥製劑化製程，始終困擾著現場製造人員；而且一般中藥萃取物的高吸溼性，所造成的顆粒或粉末流動性不良，不僅大幅增加稀釋劑的需求量外，也必須對製造環境的溫溼度更嚴格管制，無形中增加製造成本及時間的耗損[1]。常用的造粒方式，包括流動床造粒機與快速造粒機，在中藥製劑的實際應用上，除了已知萃取物的黏度對此兩種造粒法所得顆粒之性質有影響外，其他仍有許多尚未清楚的影響因素，使得顆粒的製造不易控制，顆粒物質特性之再現性差，相對增加重製的機會[2]；尤其所得的顆粒常有流動性不良的缺點，造成膠囊充填量或錠片重量的變異性增大，提高中藥科學化製劑品質之障礙[3,4]。

透過統計實驗法與適宜化步驟，由製成條件的改善與處方成份的選擇，來提高顆粒的充填與壓錠之適宜性，以及改善所製得錠片之物性，已常被用於流動床造粒與快速造粒兩種造粒製程的開發[5]。然而來自天然中藥的萃取物有其未知且無法一致的特性，會影響製程的再現性與品質的一致性。雖然大量使用稀釋劑，如澱粉、乳糖與微晶纖維素等，有助於改善中藥萃取物之吸溼性，進而改善顆粒的流動性及其壓製得錠片之物性，如果再配合實驗設計法的適宜化，可能始中藥劑型的製造更有效率[6]。但另一方面，過大的單次劑量及未能預期及掌握的劑型特質，包括膠囊的溶離及錠片的崩散與溶離，使得中藥製劑的臨床應用仍有不方便性，使其療效仍無法依據科學化準則而加以評估比較。因此，尋找一種劑型能解決中藥製劑的這些問題，將有迫切性的需要，也是提升中藥製劑科學化水準以及改善中藥製劑品質的必要性。

一般而言，口服溶液的生體可用率會比膠囊或錠片劑型較佳[7,8]，這是由於口服溶液的藥物已是溶解狀態，不像在膠囊或錠片內的藥物需等膠囊或錠片崩散後才能成溶解狀態，直接就可進行滲透而為腸黏膜所吸收[9]。但口服劑型的攜帶不易，可能需要大的體積才能完全溶解一般中藥萃取物。懸浮液劑是另一種解決大體積問題又具有相近於溶液之生體可用率的選擇，但中藥萃取物在懸浮液劑之物理穩定性以及助懸性的問題也增加處方開發的複雜性。

開發充填於軟或硬膠囊的加熱可熔之液體，半固體或固體處方組合或許是解決此些問題的明智選擇，這些加熱可熔之材質大多數屬於脂肪酸的聚乙烯二醇酯的非離子性界面活性劑，其特點為具有多種不同熔點與油水親和性平衡值可供選擇，可依照藥物之物化性質選擇作為祝融既以改善其溶解度[10]。必要時可添加共溶媒，進一步增加其溶解度，而降低達完全溶解所需的總體積。在低溫下（50℃以下）就可加熱熔融成液體狀，此時藥物可均勻的溶解或分散其中，趁熱充填於軟或硬膠囊內。而具有與膠囊殼材質的明膠相配性是這些材質的另一優點[11]。而共溶媒的添加不但可增加對中藥萃取物的溶解度，同時也可降低其熔點，所以可在更低的溫度溶解中藥萃取物以減少藥物的受熱降解的機會[12]。甚至，使其成為液體的溶解狀態，將避掉溶解的步驟而加速吸收速率，可提高口服的生體可用率[13]。充填液體或加熱可熔之半固體與固體載體於硬膠囊的機器設備也開發成功，實際產量將不會有問題，所以這是個可行的製劑[14]。

這些材質在軟或硬膠囊的成形不需要水分的存在，其可避免少量水分對中藥萃取物的降解反應，以提高產品的品質及延長有效期。但在這些材質下有必要添加 5-10％ 的水分也能被軟或硬膠囊所耐受，這將使得載體的設計更為靈活，因為有時候水分的助溶作用對中藥萃取物是必要的，尤

其是在水性的中藥萃取物可能有需要[15]。況且已知軟或硬膠囊殼的透水性與透氧性，可有效隔絕水氣與氧氣對內容物之影響，安定性可明顯的增加。而這些物質的隔絕，也降低中藥萃取物的吸溼傾向，減少吸溼性對劑型與安定性的影響[16]。

綜合而言，以此類材質設計中藥萃取物的軟硬膠囊劑型將改善中藥萃取物易於潮解而必須添加多量稀釋劑之先天缺點，因而簡化傳統繁複的中藥製劑化製程，可有效的減少製程時間與人力之耗損而降低成本。軟硬膠囊壁的低透水性與防氧性，加上助溶劑與共溶媒對中藥成份的安定性作用，會降低中藥成份的水解與氧化之降解反應，而提高中藥劑型的長期安定性，因此有助於延長中藥製劑的有效期。另一方面，助溶劑與共溶媒之添加可改善中藥成份之溶解度，增加中藥成份的口服生體可用率，進而提高中藥成份的臨床療效，或許由此可實質的降低中藥成份的治療劑量，增加病人使用的方便性與依順性。

本計畫是以新穎靈芝三帖類微模式藥，評估膠囊與錠片固體劑型以及充填於膠囊中的熱熔型載體對中藥萃取物之安定性與溶離率之影響，希望由此能確認利用熱熔性載體製備中藥萃取物知膠囊劑型的安定性。

貳、材料與方法

一、材料

新品種靈芝（Ganoderma resinaceum）為本校生物技術研究中心特別培養所提供。除了酒精購自公賣局之外，其他的試劑與溶媒皆由台灣默克公司所供應，大都為試藥級以上的等級。

二、新穎靈芝三帖類之萃取與分離

取新品種靈芝（Ganoderma resinaceum）2 公斤量，經清洗與磨碎機裁剪成細段後，再以十倍量酒精萃取三次，所取得的萃取液利用低壓濃縮後，將其吸附於矽膠 (silica gel) 後置於管柱之前端，以不同梯度比例的氯仿 ($CHCl_3$)、正己烷 (n-hexane) 及甲醇 (MeOH) 依順讓其流經矽膠管柱 (silica gel) 進行分離 (如流程圖一)。得到的各分段分離液再進行 TLC 試驗檢測。在 TLC 的實驗中使用矽膠鋁箔平板 (kieselgel 60F254 , Merck)，其展開劑的比例為氯仿：甲醇：水=30：4：1，於波長 254 nm 下觀察展開之結果。利用已經純化的三帖類為標準品進行比對，所得到含療效最強的三帖類部份 (Ganoderic acid B and C_2) 繼續濃縮，以更進一步作定量分析之用。

三、分析發法之開發

本實驗所採用的分析方法為高壓液相層析法 (HPLC)，是參照本校碩士論文之條件後 (未發表的數據)，經適當修飾後應用本研究計劃。其分析條件為使用逆相分析管柱 (Lichrospher 100 RP-18, 5 μm)，流

動相為 30 % (v/v) 的 acetonitrile 醋酸緩衝溶液 (pH 4.0，20 mM)，流速為 1 ml/min，並於紫外線波長 254nm 下偵測三帖類部份之濃度。此分析方法並經確效後，以確定用於分析 Ganoderic acid B and C_2 的系統適宜性與異日間以及同日間的準確度與精準度。降解條件下的可能干擾也一併比較分析其全圖譜，以及於主波峰前中後段紫外線圖譜的相似性而確認，以確定其安定性表徵性的可信賴度。

四、溶解度試驗

稱取固定重量的靈芝萃取物放置於試管中，然後添加不同比例組合的多二元醇脂肪酸 (如表一)，包括 Gelucire 44/ 14，37/ 02，及 50/ 02 與選用的共溶媒 PEG 600 以各種比例調配的混合物，置於 37℃的恆溫水槽中，經時搖盪並觀察是否完全溶解，再篩選比較能使三帖類成份完全溶解的最佳處方組合。另外，也以上述相同的實驗步驟觀察脂肪酸聚乙烯二醇酯 RH 20，RH 40 及 RH 60 與共溶媒 PEG 600 的組合對三帖類溶解的影響情形。

五、靈芝三帖類萃取物的膠囊與錠片之製備

取上述處方中靈芝三帖類與共溶媒以及界面活性劑最佳比例的處方組合調配後，趁其熔融狀態充填於硬膠囊中，一顆硬膠囊的充填量約為 200 mg，其靈芝三帖類含量的比例佔總成份量的十分之一。另外，在錠片的製備過程中，則將上述同樣處方比例組合的靈芝三帖類，於熔融狀態下依次添加乳糖、澱粉、微晶纖維素不同比例的組合吸附萃取物，使其達到形成具良好流動性與壓錠性的顆粒粉末，同時添加少量助滑劑 (二氧化矽) 及潤滑劑 (硬脂酸鎂) 來改善充填

問題。為確保錠片的崩散性與溶離度，處方也添加 5-10% 的崩散劑 (Ac-Di-Sol、Primojel、或 Crospovidone 等) 作為幫助崩散溶離之用。

六、製劑之加速安定性試驗

將上述製備所得含有三帖類的膠囊劑型進行鋁箔包裝後，將其分別置於 25℃、37℃及 45℃三種溫度的恒溫箱中，其相對溼度皆控制為 75%。在儲存期間，分別於一星期、二星期、三星期與四星期進行取樣。取出的樣品以甲醇稀釋，其稀釋倍數為 50 倍；再以上述精確效的高壓液相層析法測定各樣品中三帖類的含量，觀察其降解的情形，作為評估三帖類在不同劑型可能降解之參考以及安定性之評估。

參、結果

將磨碎、萃取及濃縮過的靈芝（Ganoderma resinaceum）萃取濃縮物吸附於足量的矽膠 (silica gel) 後置於管柱之前端上，再以不同梯度比例的己烷 (Hexane)、氯仿 ($CHCl_3$)、及甲醇 (MeOH) 經此矽膠管柱 (silica gel) 分離，分段所得到的分離液再經由 TLC 與已經純化的三帖類為標準品進行比對追蹤，其結果可於波長 254 nm 下觀察確認得到療效最強的三帖類部份 (Ganoderic acid B and C_2)。兩種靈芝三帖化合物的回收率分別約為 4.70 與 7.93%。兩者的純度經 TLC 與 HPLC 方法比對約可達 95% 以上，但在本實驗中並沒有試圖再繼續純化提高其純度。此樣品皆置於低溫儲存，以作為往後所有試驗中比對用的標準品。

本實驗經確效後建立一高壓液相層析法 (HPLC) 以測定靈芝三帖類的含量。分析條件包括使用的管柱為逆相分析管柱 (Lichrospher 100 RP-18, 5 μm)，流動相為 30% (v/v) 的 acetonitrile 醋酸緩衝溶液 (pH 4.0，20 mM)，流速為 1 ml/min，於紫外線波長 254 nm 下偵測三帖類含量。其中三帖類 Ganoderic acid B 及 Ganoderic acid C_2 的滯留時間分別約為 10 與 18 分鐘。其系統適宜性皆能符合藥典之規定，而異日間與同日間的準確度與精準度對 Ganoderic acid B 及 Ganoderic acid C_2 分別為 0.53-6.54 % 與 −3.11-4.86 % 以及 1.25-8.94 % 與 2.55-8.65 %。在安定性表徵性方面，利用 photodiode array (JASCO，Model MD 910) 偵測器進行高溫 (70 ℃) 加熱降解物之比較分析，其結果顯示，在 HPLC 分析圖譜只有偵測到 Ganoderic acid B 及 Ganoderic acid C_2 的主波峰，且波峰的高度有明顯的降低，但在波峰的前中後段的紫外線圖譜比對，其相似程度由分析軟體計算可達 95% 以上，顯示主波峰的純度相當高，應該沒有其他加熱降解物

質的干擾，因此可用於加速安定性試驗時，藥物含量的分析檢定。

在靈芝三帖類的溶解度實驗中，利用不同比例的多二元醇脂肪酸 (包括 Gelucire 44/ 14，37/ 02，50/ 02) 以及不同比例的脂肪酸聚乙烯二醇酯 (RH 20，RH 40，RH 60) 分別與選用的共溶媒 PEG 600 以各種比例混合，觀察其對固定含量之靈芝三帖類 Ganoderic acid B 及 Ganoderic acid C2 兩者的助溶情形。其實驗結果請參見表一，顯示 Gelucire 44/ 14 、RH 40、RH 60 分別與 PEG 600 以一定比例 (2：3) 組合，再與靈芝三帖類以 (1：9) 的比例混合後，即可使 Ganoderic acid B 及 Ganoderic acid C2 達到完全溶解於水溶液的澄清狀態。

依靈芝三帖類溶解度的實驗結果中所得到的最佳共溶媒與助溶劑比例條件，稱取適當的量充填於硬膠囊中，每顆硬膠囊的充填量約為 200 mg，其含靈芝三帖類的比例佔總重量的十分之一。另一方面，錠片的製備為選取相同的靈芝三帖類混合物組合，分別以乳糖、澱粉、或微晶纖維素依次吸附萃取物組合。其結果顯示，微晶纖維素的吸附能力最佳，約需 3 倍量的賦型劑，其次為乳糖，約需 5 倍量，而較差的澱粉則約須 6 倍量才足以完全吸附，但所形成的粉末之流動性仍不佳。所以在此製備過程中，發現為要吸附萃取物所使用的賦型劑需要蠻大的，才能使其流動性改善，在實際的應用性有待商確，並應進一步改善。

溶離試驗結果顯示，此些吸附於賦型劑的處方組合，不管是充填於膠囊或壓製成易崩散的錠片，都可於 10 分鐘內完全溶離。顯然此些處方組合或許是以物理性作用吸附於賦型劑顆粒之表面，因此不同賦型劑的吸附

表面積不同而導致需要不同用量才足以吸附相同的處方組合；而且其溶離並無任何遲滯情形，顯示表面吸附的作用力並非太強而須外力作用才足夠讓其溶離。膠囊的內容物就只是將吸附上述萃取物組合之賦型劑充填其中而已，而錠片的處方則是重新調製，使其達靈芝三帖類含量約為 1% (w/w)，並添加適量的崩散劑 (5-10 %) 增強其崩散性及助滑劑以提高顆粒粉末之流動性。因此後者如以 10 微毫克的靈芝三帖類為基準，每顆錠片的重量就可能高達 1 克以上，所以在處方設計尚須繼續改善，以達較實際之用途。

就因為錠片之處方尚須改善，因此決定單使用硬膠囊劑型作加速安定性試驗之樣品，只單純觀察溶解狀態的靈芝三帖類之安定性。將製備得到的靈芝三帖類硬膠囊以鋁箔密封包裝後，分別置於 25℃、37℃、45℃三種溫度的恒溼恒溫箱中儲存，其相對溼度皆維持為 75%。儲存期間隨一定時間取樣，再以高壓液相層析法測定三帖類含量。由實驗結果發現，若使用 Gelucire 44/ 14 及 PEG 600 作為共溶媒的硬膠囊中，其 Ganoderic acid B 及 Ganoderic acid C_2 的含量較其他高些 (如圖二及三)，其降解速率顯然較微緩慢；然而，由所有處方的安定性實驗中發現，維持 Ganoderic acid B 及 Ganoderic acid C_2 含量於 90 % 以上的期限皆僅為一至二星期之間，此結果並非理想。

肆、討論

利用先前建立的分離方法，顯示在矽膠分離管柱可以使用從低極性的己烷，經次高極性的氯仿，到高極性的甲醇梯度改變的方式，將新穎靈芝三帖類包括 Ganoderic acid B 及 Ganoderic acid C_2 分離得到。兩者的總回收率與先前的預試驗結果都十分的接近，可見其含量具有相當的穩定性，而分離方法也具有再現性，所以應用此些靈芝三帖類的分離為相當的可行與可信。但在純度方面，由其 TLC 圖譜仍可發現少量不純物的干擾，所以兩種靈芝三帖類的純度都只有約為 95% 左右。雖然可進一步以適當溶媒再結晶而提高純度，但考慮其未來實際產品應用時的可能狀態，此純度應足以達到臨床所需，因此觀察此型態狀況下的溶解特質與安定性將較適合實務狀況。

在高效液相層析法開發方面，利用先前論文發表的分析條件為基礎，作適當的條件修飾後，經確效證明具有足夠的系統適宜性，以及異日間與同日間的準確度與精準度為可接受。修飾的條件包括管柱溫度的控制，本研究改於室溫下進行分析，雖然波峰的對稱性沒有先前方法良好，但仍在可接受範圍之內，只是拖尾效果較差而已，所以稍微簡化分析條件而不必一定要在特定管柱溫度下才能進行分析。而利用 Photodiode array 解析證明主波峰不同波段的紫外線光譜相似程度很高，也進一步說明加熱所可能產生的降解產物，不至於會干擾兩個靈芝三帖類的主波峰的分析結果，所以利用此分析方法於一般性或是加速安定性試驗的含量分析應為可行。

在溶解度方面，選用刺激性較低的非離子性界面活性劑的 Gelucire 與

Cremorphor 系列，配合可與膠囊殼成分相配的 PEG 600，篩選得到可於最低添加量下，以特定處方組合使兩種靈芝三帖類達到完全溶解於水溶液而呈現澄清狀態。其助溶效果當然可由固體吸附的膠囊處方或錠片劑型之快速溶離得到證明。但在吸附性上，則目前使用的數種賦型劑並非最為理想，仍需要較大量的添加量，才足以完全吸附此些半固體劑型而成為流動較佳的粉末，而有利於膠囊充填或錠劑壓制。相對的，在錠片的崩散性方面也需要添加足量與適當的崩散劑才能顯現出此些處方組合的助溶效果。這也是目前將此類處方轉變為固態處方所必須繼續探討改善的課題。

由於固體處方尚非最為理想，所以只選用直接充填於膠囊的半固體處方組合作為加速安定性試驗的樣品。希望先了解此些助溶效果不錯的基劑處方，對於藥物安定性之影響。但結果顯示，Gelucire 系列雖有稍加的安定性，可是就整體而言，此兩種靈芝三帖類的安定性在此些處方基劑中，都不是很好。所有兩者在基劑處方的有效期略估只有一至二星期而已。此結果並非如所預期的，其可能的原因尚在探究中，歸納如下所列：

一、完全溶解狀態增加藥物與降解因子接觸之機會，所以加速其降解反應

二、膠囊殼之水分或鋁箔包裝不夠密封而導致水分侵入基劑處方，而水份的存在往往加速藥物的降解機會，同時界面活性劑對於水分的助溶效果或許會更催化水分的降解作用

三、基劑處方仍存在其他降解因子，如 PEG 600 可能含有 Peroxide，而使得藥物的安定性受到影響

四、不純物的存在仍為可能的降解因子，有待進一步的探討

五、基劑處方的酸鹼值在本試驗中並沒有控制，或許是可能的降解因子之一

伍、結論與建議

本計畫之研究目的在於改善中藥的製劑劑型，以提高其成份的安定性，及增強中藥成份的生體可用率而加強其臨床的治療效果。本實驗選用靈芝單方的三帖類萃取物為模式中藥成份，使用生體可接受之助溶劑與共溶媒溶解成為加熱可溶的固體或半固體劑型，而後在熔融狀態下直接充填而製備成膠囊劑型。整體而言，應用此類劑型於中藥成分的製備已證明為可行，不但可以簡化中藥處方劑型的製造與生產，而且對於中藥成分的溶離效果，也有明顯的改善，必將進而改善中藥成分的生體可用率。尚未達成的是改善安定性方面，必須繼續探討其不安定的可能原因，以尋求解決之道。理論而言，非離子性界面活性劑對於藥物的安定性應比其他種類的界面活性劑來的好，此結果並非如所期望，繼續探討研究是本計劃最終的建議，讓此些已證明有其功效的劑型能成為將來中藥成份的標準處方，善用此些劑型的多種優點。

陸、參考文獻

1. S.A.S. Aly, "A new approach for evaluating the compressional behavior of pharmaceutical powders I. Powder mixtures containing non-compressible components", S.T.P. Pharma Sciences 3(3), 221-226 (1993).

2. N. Wakiyama, A. Kusai, and K. Nishimura, "Bonding forces between particles in powders containing oily material", S.T.P. Pharma Sciences 3(3), 227-231 (1993).

3. M. S. Gordon, V. S. Rudraraju, J. K. Rhie and Z. T. Chowhan, "The effect of aging on the dissolution of wet granulated tablets containing super disintegrants", Int. J. Pharm., 97, 119-131 (1993).

4. L. H. Cartilier and R. Tawashi, "Effect of particle morphology on the flow and packing properties of lactose", S.T.P.Pharma Sciecens, 3(3), 213-220 (1993).

5. H. Kokubo. S. Nakamura, and H. Sunada, "Effect of several cellulosic binders on particle size distribution in fluidized bed granulation", Chem. Phar. Bull., 43(8), 1402-1406 (1995).

6. Sarciaux et al. "Drug absorption in the intestine", Int. J. Pharm., 120, 127 (1995).

7. J. R. Robinson, "Recent advances in formulation of poorly absorbed drugs", Capsulegel Library, p.59-63 (1994).

8. M. Mayersohn, "Principles of Drug Absorption" in "Modern Pharmaceutics" edited by G. S. Banker and C. T. Rhodes, Marcel Dekker, Inc., pp.21-73 (1996).

9. J. Aungst, "Novel formulation strategies for improving oral bioavailability of drugs with poor membrane permeation or presystemic metabolism", J. Pharm. Sci., 82, 979-987 (1993).

10. S. Esmail Tabibi and C. T. Rhodes, "Disperse Systems" in "Modern Pharmaceutics" edited by G. S. Banker and C. T. Rhodes, Marcel Dekker, Inc., pp.299-331 (1996).

11. N. H. Shah, M. T. Carvajal, C. I. Patel, M. H. Infeld and A. W. Malick, "Selfemulsifying drug delivery systems (SEDDS) with polyglycolized glycerides for improving in vitro dissolution and oral absorption of lipophilic drugs", Int. J. Pharm., 106, 15-23 (1994).

12. N. H. Shah, "Liquid and semisolid filling in hard gelatin capsules: formulation and processing consideration", in "Semi-solid Formulation & Oral Absorption Enhancement", 30th JOURN'EES GALENIQUES, 1996, pp. 31-32.

13. S. G. Barnwell, L. Gauci, R. J. Harris, D. Attwood, G. Littlewood, P. Guard, M. E. Pickup and P. Barrington, "Greatly enhanced oral bioavailability of propranolol using the HALO liver-bypass drug delivery system", J. Controlled Release, 28, 306-309 (1994).

14. G. C. Cole "Capsule Filling Machinery", in Hard Capsules: Development and Technology, K. Ridgway, Ed. (The Pharmaceutical Press, London, 1987), pp. 104-163.

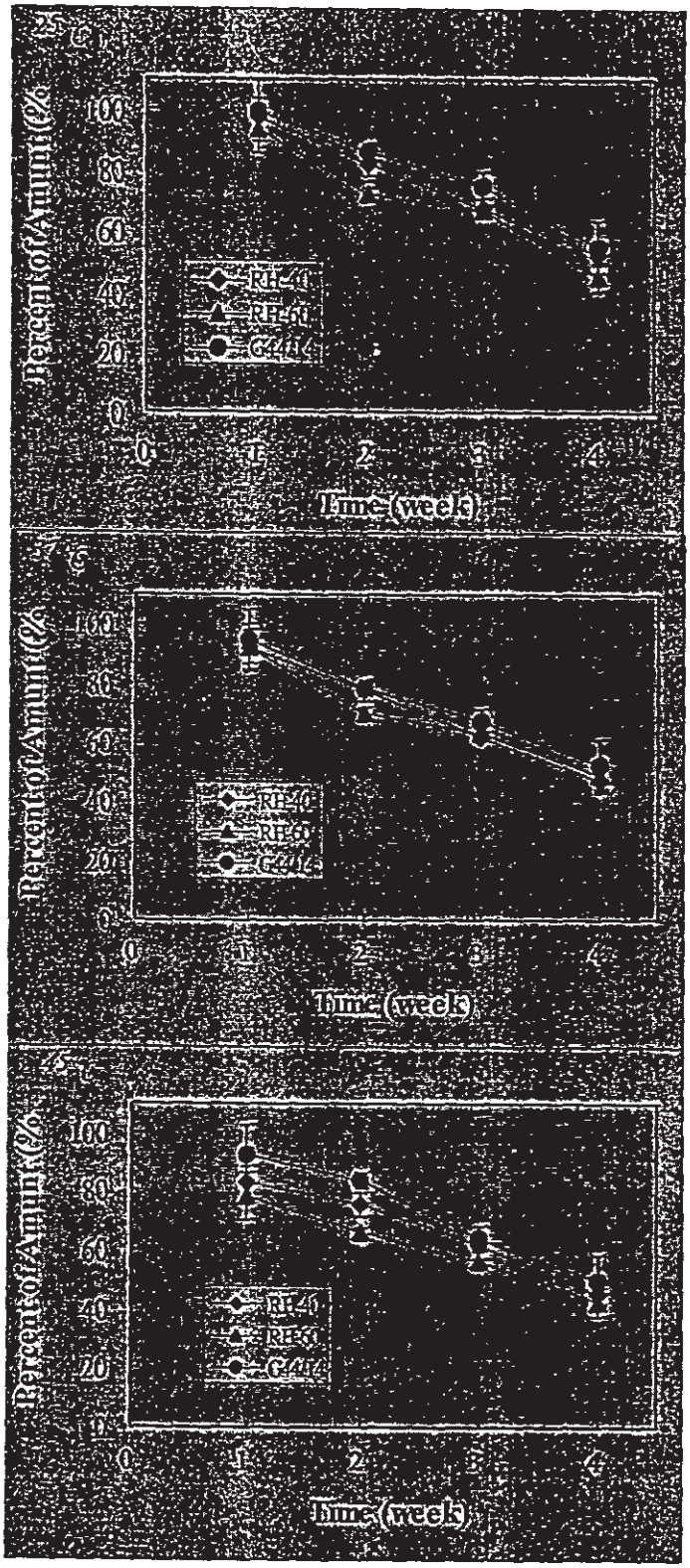
15. W.N.A. Charman and V. J. Stella, "Transport of lipophilic molecules by the intestinal lynphatic system", Adv. Drug Del. Rev., 7, 1-14 (1991).

16. N. H. Shah, "Liquid and semisolid filling in hard gelatin capsules: formulation and processing consideration", in "Semi-solid Formulation & Oral Absorption Enhancement", 30th JOURN'EES GALENIQUES, 1996, pp. 30-31.

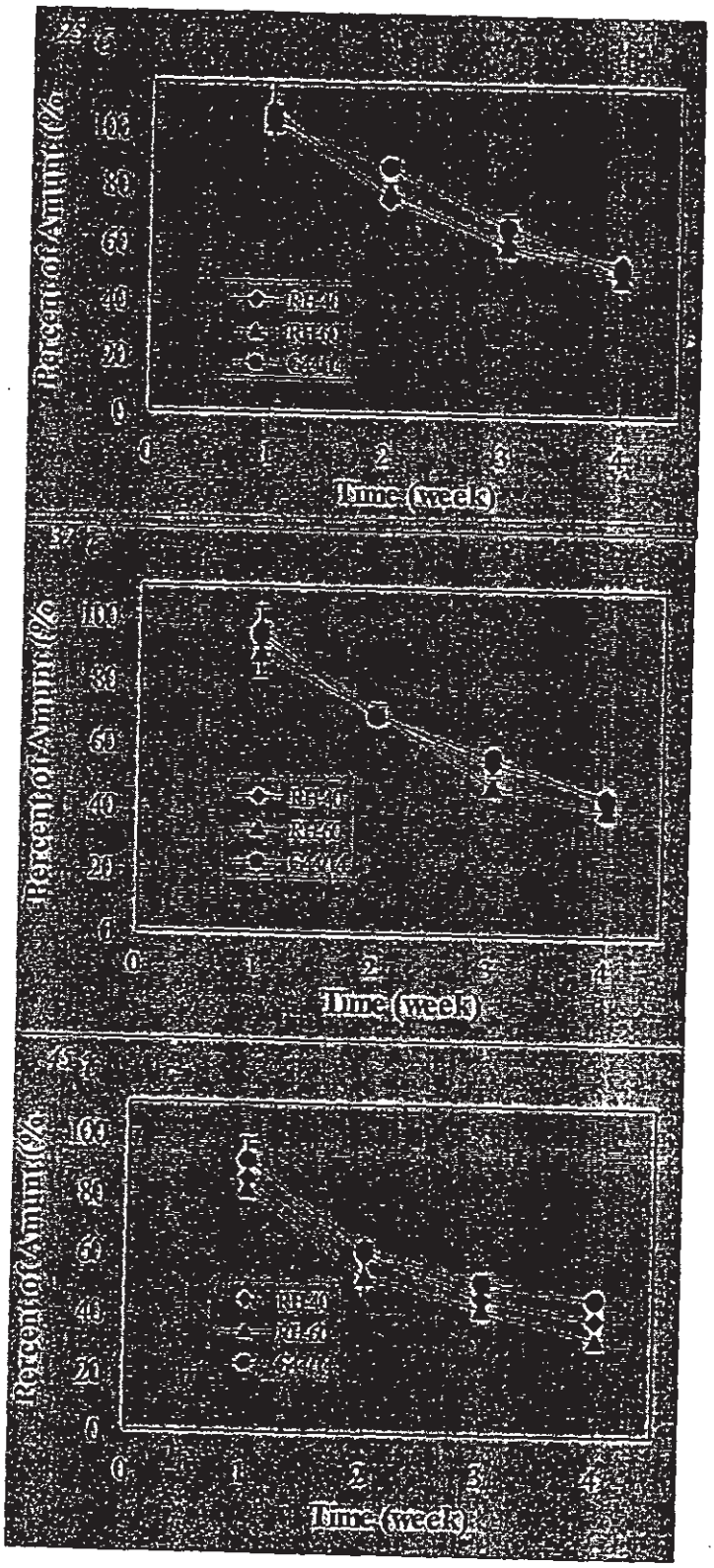
柒、圖、表

↓ n-hexane packing silicagel
↓ loading sample
↓ 100% n-hexane 500ml
↓ 90% n-hexane : 10% CHCl3 500ml
↓ 80% n-hexane : 20% CHCl3 500ml
↓ 70% n-hexane : 30% CHCl3 500ml
↓ 60% n-hexane : 40% CHCl3 500ml
↓ 50% n-hexane : 50% CHCl3 500ml
↓ 40% n-hexane : 60% CHCl3 500ml
↓ 30% n-hexane : 70% CHCl3 500ml
↓ 20% n-hexane : 80% CHCl3 500ml
↓ 10% n-hexane : 90% $CHCl_3$ 500ml
↓ 100% $CHCl_3$ 1500ml
↓ 95% $CHCl_3$: 5% MeOH 1000ml
↓ 90% $CHCl_3$: 10% MeOH 750ml
↓ 85% $CHCl_3$: 15% MeOH 750ml
↓ 80% $CHCl_3$: 20% MeOH 750ml
↓ 75% $CHCl_3$: 25% MeOH 750ml
↓ 70% $CHCl_3$: 30% MeOH 750ml
↓ 再點 TLC 片，展開劑為 $CHCl_3$: MeOH : H_2O =30 : 4 : 1 於波長 254 nm 下觀察且與標準品比對確認
↓ 將相同的 compound 混合並濃縮之

圖一、靈芝三帖類萃取分離之流程



圖二、Ganoderic acid B 的安定性試驗



圖三、Ganoderic acid C_2 的安定性試驗

表一、多二元醇脂肪酸的混合比例

Gelucire / *No.*	44 /14	37 / 02	50 / 02
1	1	0	0
2	0	1	0
3	0	0	1
4	0.5	0.5	0
5	0.5	0	0.5
6	0	0.5	0.5
7	0.33	0.33	0.33

表二、多二元醇脂肪酸混合物與共溶媒的組合比例

溶媒 / *No.*	Gelucire mixture	PEG 600
1	1	1
2	2	1
3	3	1
4	3	2
5	2	3
6	1	3
7	1	2