[PG9202-0349] CCMP92-CT-09 (22P)

計畫編號：CCMP92-CT-09 附件 1-1

行政院衛生署九十二年度科技研究發展計畫

調胃承氣湯之安定性試驗

委 託 研 究 報 告

執 行 機 構：台北醫學大學 生藥技術學系

計 畫 主 持 人：王靜瓊

研究人員： 許明照 簡廷易 游璧如 曾稚富

執行期間： 92 年 01 月 01 日至 92 年 12 月 31 日

＊＊ 本研究報告僅供參考，不代表本署意見 ＊＊

計畫編號：CCMP92-CT-09　　附件 1-2

各機關研究計畫基本資料庫之計畫編號：

行政院衛生署九十-二年度科技研究發展計畫

調胃承氣湯之安定性試驗

委 託 研 究 報 告

執　行　機　構：台北醫學大學　生藥技術學系

計 畫 主 持 人：王靜瓊

研究人員：　　許明照　簡廷易　游璧如　曾稚富

執行期間：　92 年 01 月 01 日至 92 年 12 月 31 日

＊＊ 本研究報告僅供參考，不代表本署意見 ＊＊

編號：CCMP92-CT-09　　附件 1-3

行政院衛生署中醫藥委員會九十二年度

委託研究計畫成果報告

調胃承氣湯之安定性試驗

執　行　機　構：台北醫學大學　生藥技術學系

計 畫 主 持 人：王靜瓊

研究人員：　　許明照　簡廷易　游璧如　曾稚富

執行期間：　92 年 01 月 01 日至 92 年 12 月 31 日

＊＊ 本研究報告僅供參考，不代表本會意見 ＊＊

目錄.....1.

中文摘要..... 2.

英文摘要..... 3.

壹、前言..... 4.

貳、材料與方法..... 4.

參、結果..... 7.

肆、討論..... 9.

伍、結論與建議..... 10.

陸、參考文獻..... 11.

柒、圖、表目錄

圖目錄

圖一、調胃承氣湯中 Sennosides A 及 B 指標成分之 HPLC 含量分析圖..... 12.

圖二、Sennosides A 及 B 之標準曲線..... 12.

圖三、三承氣湯之指紋圖譜..... 13.

圖四、調胃承氣湯於室溫（25℃）下酸鹼度之影響圖..... 14.

圖五之一、調胃承氣湯於不同溫度下貯存不同時間之 Sennoside A 濃度變化圖.... 15.

圖五之二、調胃承氣湯於不同溫度下貯存不同時間之 Sennoside B 濃度變化圖.... 16.

表目錄

表一、調胃承氣湯之同日及異日分析..... 17.

表二、市售調胃承氣湯之 Sennosides A 及 B 之含量..... 17.

表三、大黃與調胃承氣湯中 Sennosides A 及 B 之移行率..... 17.

表四、酸鹼度於室溫（25℃）下對調胃承氣湯中 Sennosides A 及 B 之影響..... 17.

表五之一、調胃承氣湯於不同溫度下貯存不同時間之 Sennoside A 之殘餘量..... 18.

表五之二、調胃承氣湯於不同溫度下貯存不同時間之 Sennoside B 之殘餘量..... 19.

編號：CCMP92-CT-09　　附件 2

調胃承氣湯之安定性試驗

計畫主持人 王靜瓊

執行單位　台北醫學大學　生藥技術學系

摘要

中藥科學化最大的瓶頸是如何有效的控制其品質及穩定性？而定量的困難，在於不知何組成含有多少量，可以代表此一製劑之有效性。且方劑以科學化之劑型生產時，因其組成複雜，與古代給藥經驗亦不相同，新劑型與給藥方式是否產生毒性，皆應該依新藥上市之辦法評估其安定性。因而如何進行中藥製劑之安定性品管，是迫切待解決之問題。目前各 GMP 中藥廠已依衛生署中醫藥委員會規定，皆自行訂定指標成分之標準，進行安定性試驗，計算出有效貯存時間，但各廠間並無統一之標準，導致市售製劑各家效果不一。故本研究根據西藥之安定性進行調胃承氣湯之安定性試驗，結果發現大黃之指標成分 Sennosides A 及 B 在藥用大黃中含量比錦紋大黃高，且於調胃承氣湯中之移行率為 50%以下，但在加速安定性試驗中發現成分消長不明顯，無一規則性，顯示中藥製劑不適合用加速安定性試驗方法，宜採用貯存性安定試驗監測。另已利用 HPLC 建立三承氣湯之指紋圖譜，且發現調胃承氣湯之 Sennoside B 及 Aloe-emodin 含量較大、小承氣湯多，而大、小承氣湯之差異在於 Rhein 與 Mangnolol 之含量比例不同。

關鍵詞：大黃，調胃承氣湯，加速安定性試驗，酸鹼度安定性試驗，毒性試驗

The Stability Test of Tiao-Wei-Cheng-Qi Tang

計畫主持人英文名 Wang, Ching-Chiung

執行單位英文名稱 School of Pharmacognosy Technology,
Taipei Medical University

ABSTRACT

It is important to control the quality of Chinese medicine products. However, Chinese medicine included complex compounds; it is difficult to identify which is an active principle. The purpose of this research is to establish the normal quality-controlling process through determining the chemical markers of Chinese medicine products by HPLC system. In this study, we investigated the safety and toxicity of Tiao-Wei-Cheng-Qi Tang (TWCQ). The prescriptions of Tiao-Wei-Cheng-Qi Tang are Rhubarb, Licorice and Mirabilitum, and Rhubarb is the major active component among them. Therefore, sennosides A and B were used as substance markers in TWCQ. The results showing: (1) Sennosides A and B content in commercial TWCQ were very difference between pharmaceutical companies. (2) High content of sennosides A, B in *R. officinale* is a characteristic different from *R. palmatum*. (3) Sennosides A and B content in commercial TWCQ were stable in stress conditions, temperatures. However, TWCQ was suitable in aqueouse solution of pH 4~5. In according to the above results, we suggested that the stability analysis of Chinese medicine products did not suitably use the stress stability test. The other hand, the HPLC fingerprint spectrum of Tiao-Wei-Cheng-Qi Tang was compared with the other similar prescriptions, Da Cheng-Qi Tang (DCQ) and Xiao Cheng-Qi Tang (XCQ), that was identified the special principle, sennoside B and aloe-emodin in Tiao-Wei-Cheng-Qi Tang. The content ratio of rhein and mangnolol was difference between DCQ and XCQ.

Keywords：Rhubarb, Tiao-Wei-Cheng-Qi Tang, the stress stability test

壹、前言

附件 4

本研究承繼【91 年度大黃炮製研究】之成果，已得知大黃生品及炮製品前後成分之變化，並比較台灣市售品及大陸購得之藥材，且經由生物活性及毒性試驗，綜合比較評估後，訂出大黃理想的炮製方法及七種 anthraquinones 之含量。因而選擇以大黃為君藥，芒硝、甘草為輔之調胃承氣湯，做為建立安定試驗之模式。

瀉下劑中主要用於裏實便秘之寒下劑，以【三承氣湯】為主，其泛指大承氣湯、小承氣湯、調胃承氣湯。此三方以承氣命名乃指順承胃氣之意，且均已大黃為君藥。正如《本經疏證・卷十一》鄒樹所說：『三承氣湯中，有用枳朴者，有不用枳朴者；有用芒硝者，有不用芒硝者；有用甘草者，有不用甘草者；惟大黃則無不用，是承氣之名，故當屬大黃』。然而藥方雖類似但應用卻有差異，如：大承氣湯之使用以有痞、滿、燥、實四症俱全為主。小承氣湯之使用以有痞滿而不燥實者為主。調胃承氣湯之使用以燥實而無痞滿者為主。所以大黃配伍甘草、枳實、厚朴或芒硝後，對大黃之瀉下成分是否有影響，繼而產生不同之療效，是本研究探討重點之一。

貳、材料與方法

一、調胃承氣湯傳統與濃縮劑之製作

依中醫藥委員會規定之標準方劑中，調胃承氣湯劑組成比：大黃：芒硝：炙甘草為 8：16：4，且一日量為 28 克。

1. **傳統散劑**：將大黃、甘草粉碎，再與芒硝混合，使之完全通過 80 號篩，製成生藥極細粉，備用。
2. **濃縮散**：將大黃與甘草先行煎煮，過濾、濃縮至適當量後，冷凍乾燥，再加入芒硝及賦形劑混合均勻，使之完全通過 80 號篩，製成生藥極細

粉，備用。

二、調胃承氣湯之指標成分分析條件建立

調胃承氣湯主要作用為瀉下，故以大黃為君藥，並以 **Sennosides A, B** 作為監測之指標成分。

1. Sennosides A, B 於藥材及製劑間之移行率評估

根據 91 年度大黃炮製研究之結果，已得知 Sennosides A, B 於藥材中標準含量，因而再購入三批不同來源之大黃，並分別製成三批調胃承氣湯傳統製劑及濃縮製劑。

（1）**大黃之 Sennosides A, B 之分析**：粉碎大黃、過 20 篩，加入十倍量之 MeOH，以超音波震盪三十分鐘，定量分析 Sennosides A, B 之含量。

（2）**標準湯劑之 Sennosides A, B 之分析**：依衛署規定取處方一日量藥材加入二十倍量水，煮沸三十分鐘以上，直至煎煮液為原加入水之一半量之湯液，再定量分析 Sennosides A, B 之含量。

（3）**製劑之 Sennosides A, B 之分析**：定量一日量之製劑，加入十倍量之 MeOH，以超音波震盪三十分鐘，定量分析 Sennosides A, B 之含量。

2. **移行率之計算**：依藥材、標準湯劑及製劑之 Sennosides A, B 含量，可計算出移行率。

3. **檢量線之製作**：精確秤取標準品溶液適量，以適量 MeOH 溶解後，再定容至 5ml 即為標準品溶液(400μg/ml)，以移動相溶液稀釋調配成 6 種不同濃度之溶液。

4. **同日內與異日間之分析**

（1）同日內分析之差異：將檢品在同日內作三次分析，計算其平均值、標準偏差及變異係數(%)，以評估其分析條件之穩定性及測量值之再現性。

（2）異日間分析之差異：將檢品在連續三日各作三次分析，計算其平均值、標準偏差及變異係數(%)，以評估其分析條件之穩定性及測量值之再現性。

5. **添加回收率試驗**：精確秤取大黃及製劑成品，並分別加入各標準品溶液，使待測溶液中分別含定量之活性指標成分，並以 HPLC 進行定量分析。

6. **化學試劑材料來源**：HPLC 級溶媒購自 Merck 藥廠。標準品：chrysophanol, emodin, sennoside A, sennoside B, aloe-emodin , physcion, rhein 等購自 EXTRASYNTHESE INC. ; hesperidin, honokiol, magnolol, narigenin, narigin, glycyrrhizin 等購自 NACALAI TESQUE, INC.。

三、「三承氣湯」之含量差異比較

三承氣湯是指大承氣湯(大黃 8g：枳實 16g：厚朴 3g：芒硝 6g)、小承氣湯(大黃 14g：枳實 7g：厚朴 7g)、調胃承氣湯(大黃 12g：甘草 6g：芒硝 12g)。其組成差異在於，大黃配伍甘草、枳實、厚朴或芒硝，所以分析比較三承氣湯之成分變化，有助於了解大黃與他藥配伍後，對大黃其他成分消長之影響，並得知調胃承氣湯之特有成分。

四、調胃承氣湯之酸鹼度安定性評估

1. 緩衝溶液之製備

配置 pH 1~9 不同酸鹼度之緩衝溶液，以檢測調胃承氣湯在不同酸鹼度下之安定性。配置處方如表一，經秤各試劑後，置於 250ml 定量瓶內，以 200ml 純水溶解混合均勻後，以 2.0N 的 HCl 或 2.0N 的 NaOH 溶液調整緩衝溶液之 pH 值，再加水製刻度後充分混合均勻即得。

2. 酸鹼度於室溫下對調胃承氣湯之影響

取各種 pH 值之緩衝溶液分別於定量瓶中，加入調胃承氣湯之標儲備溶液，再以緩衝溶液稀釋至 5 g/ml，於室溫（25℃）恆溫恆濕箱中

反應，並於不同時間點取出，再以 HPLC 分析指標成分之含量。

五、調胃承氣湯之濃縮製劑之加速安定性評估

取成品製劑一日量，分別置於 25℃(2℃/60(5%RH、30℃(2℃/60(5%RH、40℃(2℃/75(5%RH 條件下之恆溫恆濕箱，再貯存 0, 2, 4, 6 個月，分別取出之樣品存放於-80℃，直至最後一樣品收集齊全，再一併分析含量變化。

六、調胃承氣湯之毒性試驗

將加速安定性實驗之各溫度及貯存後之樣品，利用衛生署食品管理局規定之第二類傳統食用品之毒性試驗方法。以沙門氏菌(Salmonella typhimurium, Xenometrix Inc.)之 TA98 及 TA100 致突變試驗，檢測樣品是否有毒性產生。5mg/plat 樣品之萃取物，塗抹於 TA98 與 TA100 上，觀察其是否有致突變之現象。

參、結果

一、調胃承氣湯之分析系統建立並檢測市售品之指標成分

已建立分析調胃承氣湯中 Sennosides A 及 B 指標成分之 HPLC 含量分析條件。(如圖一)

1. Sennosides A, B 濃度 1.57~50.0(g/ml 之線性關係：(如圖二)

   Sennoside A: Y=4849.1X+2707.0, R2=0.9994，滯留時間：37.5 min。

   Sennoside B: Y=4016.9X+2213.2, R2=0.9996，滯留時間：20.2 min。

2. 同日間及異日間之 Sennoside B RSD 值皆小於 5% 比 Sennoside A 理想。(表一)
3. 添加回收率：Sennoside A 為 91.68% ，Sennoside B 為 103.14% 。(表一)
4. 購得四種市售品，應用此分析方法，亦能測得 Sennosides A 及 B，但含量差距甚大。(表二)

二、大黃與調胃承氣湯中 Sennosides A 及 B 之移行率變化

本實驗利用三種方法萃取大黃及調胃承氣湯 HPLC 並利用偵測 sennosides A 及 B 含量之變化，發現：1. 利用 10 倍體積之 MeOH 超音震盪萃取，2. 利用 20 倍體積之蒸餾水，煎煮萃取成標準湯劑，3. 將

標準湯劑冷凍乾燥後之萃取物。結果：以標準湯劑萃取，大黃之 sennosides A 及 B 含量，於調味承氣湯中減少最少，即其移行率最小，相對利用冷凍乾燥後之萃取物，sennosides A 及 B 含量減少最多，移行率最大（表三）。

由表三中得知藥用大黃之 sennosides A 及 B 含量明顯比錦紋大黃多，且錦紋大黃經不同溫度貯存後，sennoside B 含量少至無法測得。

三、三承氣湯之分析方法

層析管柱：LiChrospher 100 RP-18e, 5μm, 4mm i.d.×250 mm (Merck®)

移動相溶媒：

min	0,	45	60,	70,	80,	90
CH_3CN	5,	45,	100,	100,	5,	5
0.05% TFA	95,	55,	0,	95,	95,	95

檢測波長：UV 254 nm, 流速：1.0 ml/min, 溫度：25℃

1. 此條件可分析 chrysophanol, emodin, glycyrrhizin, hesperidin, honokiol, magnolol, narigenin, narigin, physcion, rhein, sennoside A, sennoside B, aloe-emodin。（如圖三）
2. 大承氣湯中 Sennosides A 及 B 如果芒硝後下會比同時煎煮，含量明顯下降。
3. 三承氣湯之指紋圖譜結果顯示：調胃承氣湯之 Sennoside B 及 Aloe-emodin 含量較其他高。大，小承氣湯中 Rhein 與 Mangnolol 比例不同。

四、調胃承氣湯之安定性評估

1. 酸鹼度於室溫（25℃）下對調胃承氣湯之影響

調胃承氣湯標準方動乾燥後之粉末在 pH 1~9，發現其其圖形為 Bell Shape，且在 pH4~5 之間最安定，所含濃度最高。（如圖四）

2. 濃縮製劑之加速安定性評估

選購三批來自不同商家之藥材，鑑別後得知第一批為錦紋大黃、第二批及第三批為藥用大黃，且第三批為酒製大黃，結果顯示：生品之藥用大黃製成之調胃承氣湯 Sennosides A 及 B 含量最高，錦紋含量甚低。且調胃承氣湯標準方冷凍乾燥後之粉末在 25、30、40℃下，貯存 1、2、3、6 個月後其 Sennosides A 及 B 降解的不明顯，如圖五，且 Sennosides A 及 B 於 25、30℃貯存 6 個月，殘餘率皆大於 80%，但 Sennosides A 及 B 於 40℃下會明顯降解但與時間不呈現性（表五）。

五、調胃承氣湯之毒性試驗

將加速安定性實驗之各溫度及貯存後之樣品，以沙門氏菌之 TA98 及 TA100 檢測其毒性，結果皆呈現陰性反應。

肆、討論

一、調胃承氣湯之安定性試驗方法

本研究利用西藥之安定性試驗辦法，進行檢測調胃承氣湯中之君藥的瀉下作用之主成分，結果發現：藥材來源不同其含量變化甚大，且因製劑本身並非單一之成分，可能組成之成分間可能相互影響，造成無一可依循之線性規則。其在加速安定性試驗中，呈現非零級、一級或二及反應，且 sennosides A 及 B 之消長亦不一致，所以何指標成分為準相對變成很重要。

二、三承氣湯之指紋圖譜變化

根據三承氣湯之指紋圖譜發現，大承氣湯後下比先下 magnolol 及 rhein 明顯增加，sennosides A 及 B 等並無顯著變化。其造成原因可能

是藥材比例不同，煎煮後使煎煮液酸鹼度不同，導致成分溶離度差異有關。

伍、結論與建議

一、 結論

本研究利用西藥之加速安定性試驗試驗辦法，進行調胃承氣湯之安定性試驗檢測，結果發現其在 pH 4~5 之間最安定，且溫度及貯存時間對其成分降解影響不大，且無毒性產生。中藥製劑皆經由水煎煮，萃取濃縮製得，因而其成分大多對熱較為安定，相對於酸鹼度則較為不安定。因而未來再制訂『中藥安定性試驗』，建議不宜採用加速安定性試驗，而建議要納入酸鹼度檢測。

另並利用 HPLC 已建立三承氣湯之指紋圖譜，其指標成分分別可以用 Sennosides A, B，Aloe-emodin， Rhein 與 Mangnolol。

二、 建議

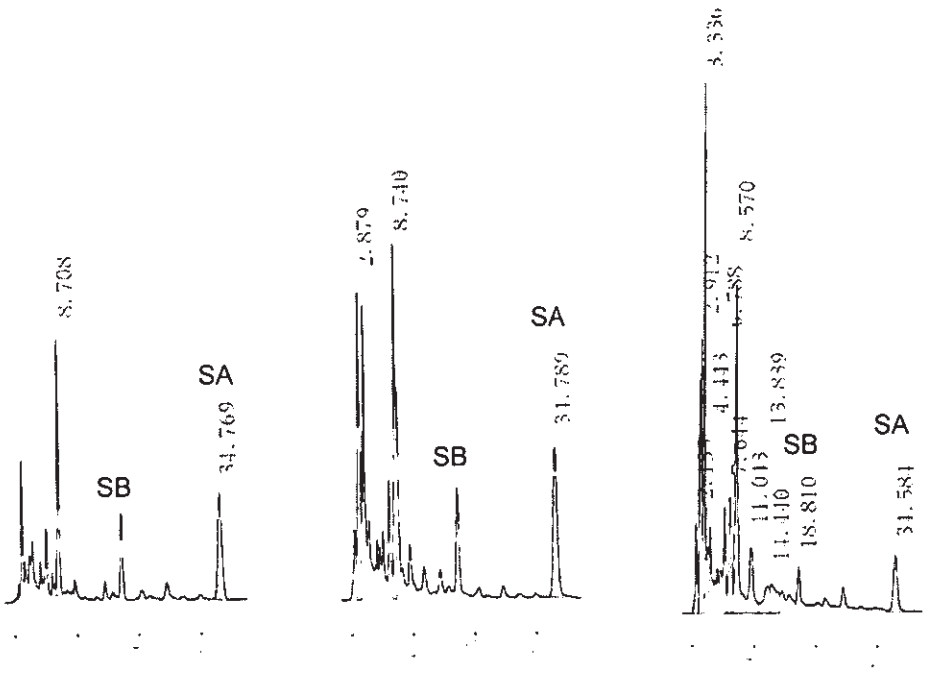
1. Sennoside A 及 B 從大黃到調胃承氣湯，其移行率甚大，且依製作的過程不同，而有差異其中以標準湯劑移行率最小，故建議以標準湯為標準，訂定移行率於 50%以下。

2. 經由本次實驗之經驗發現，複方中成分交互影響甚大，且西藥之加速安定性試驗並不適合中藥製劑用，應該另設方法，建議應該先從單一成分之安定性試驗開始，再研擬製劑之安定性試驗方法。

陸、參考文獻

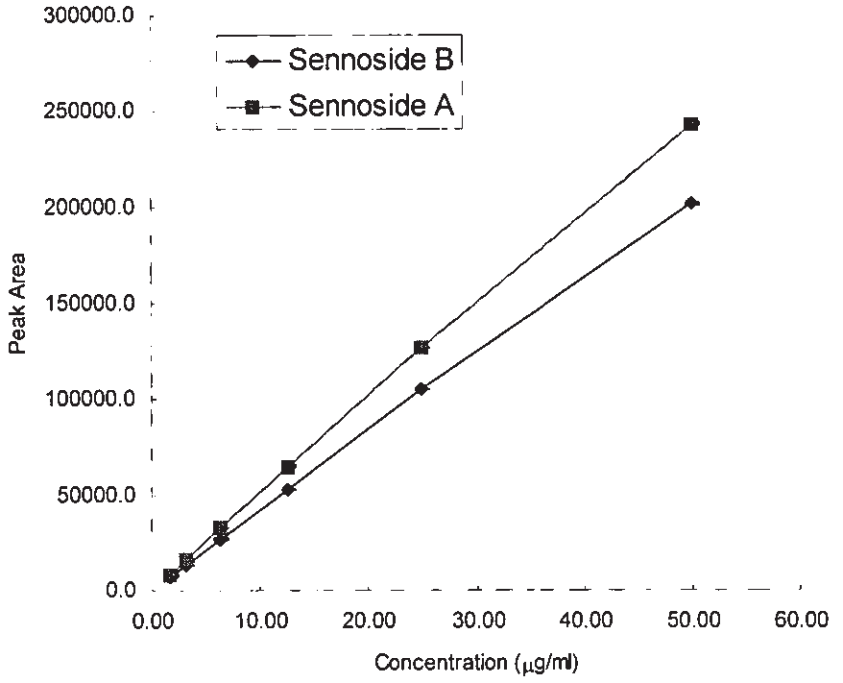
1. 中醫藥委員會公告之『中藥濃縮劑制訂指標成分定量法及規格注意事項』
2. 王錦之、許濟群主編，方劑學，知音出版社，台北，民國 87，pp88-92
3. 賈文魁，調胃承氣湯及小承氣湯功效謊議，山西中醫，6（2），29-29。
4. 王金洲等，調胃承氣湯新用，新中醫，25（3），45-45。
5. Jen T, Drug Stability , New YorK, 1990, pp29-34.
6. 衛生署公告『藥品安定性試驗基準』，衛署藥字第 87041838 號
7. Donald J. Ecobichon, The Basis of Toxicity Testing, CRC press, USA, 1992, pp113-136.

柒、圖、表

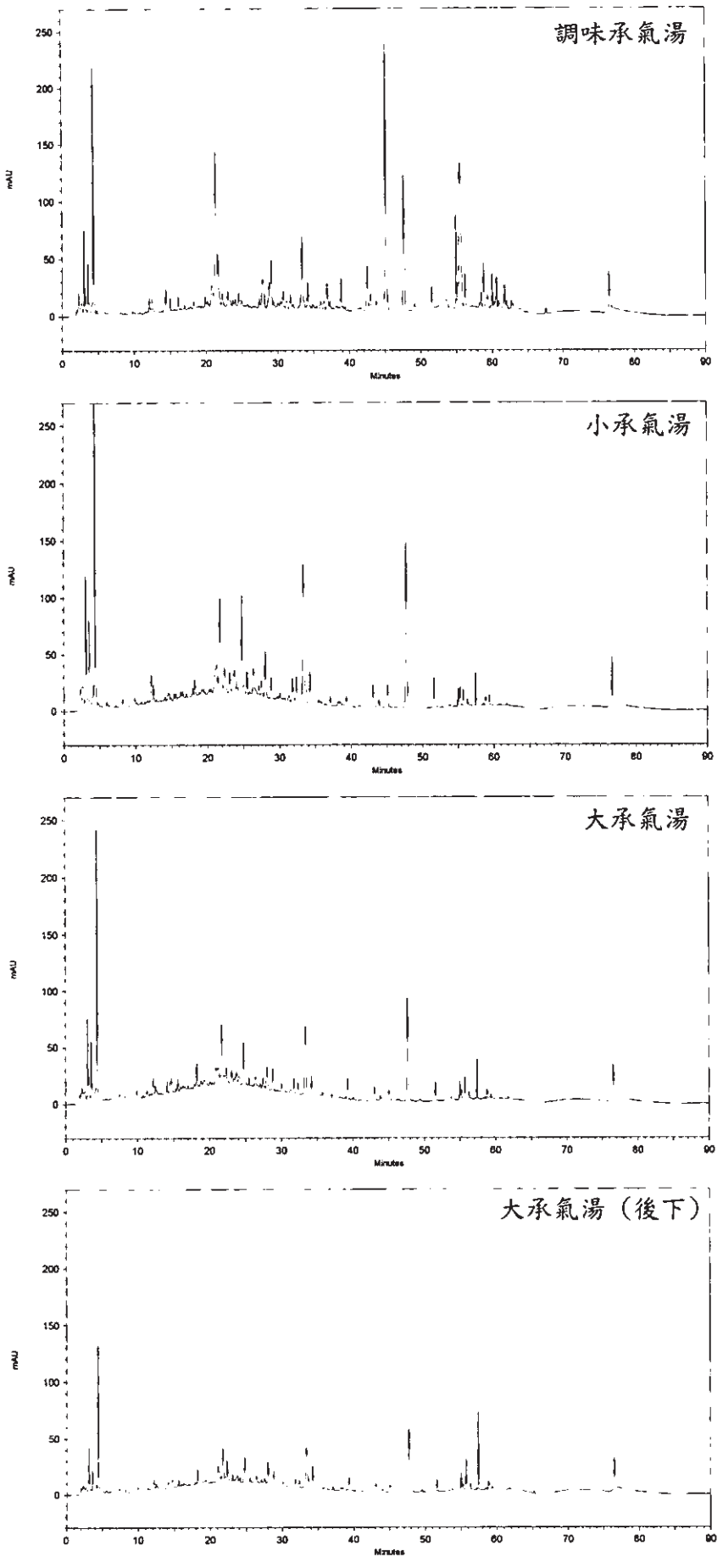


大黃　　調胃承氣湯標準湯　　市售調胃承氣湯

圖一、調胃承氣湯中 Sennosides A 及 B 指標成分之 HPLC 含量分析圖。Sennoside B (SB)及 Sennoside A (SA) 滯留時間分別為 18.8, 34.5 分。



圖二、Sennosides A 及 B 之標準曲線。



圖三、三承氣湯之指紋圖譜。

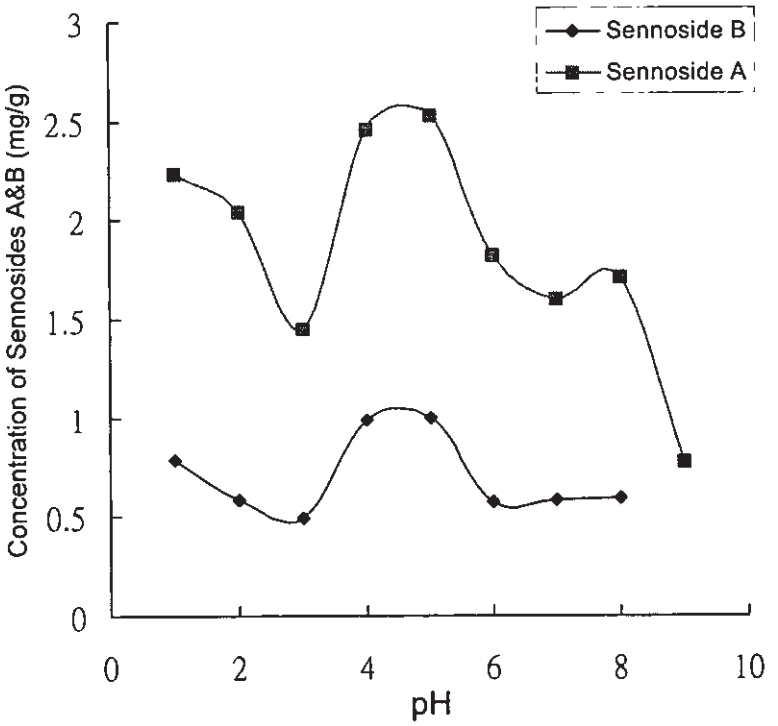
大黃: aloe-emodin(45.09), chrysophanol (59.35), emodin (55.21), physcion (60.91), rhein (47.68), sennoside A(24.72), sennoside B(21.78)。

枳實: hesperidin (25.78), narigenin (36.42), narigin (24.79)。

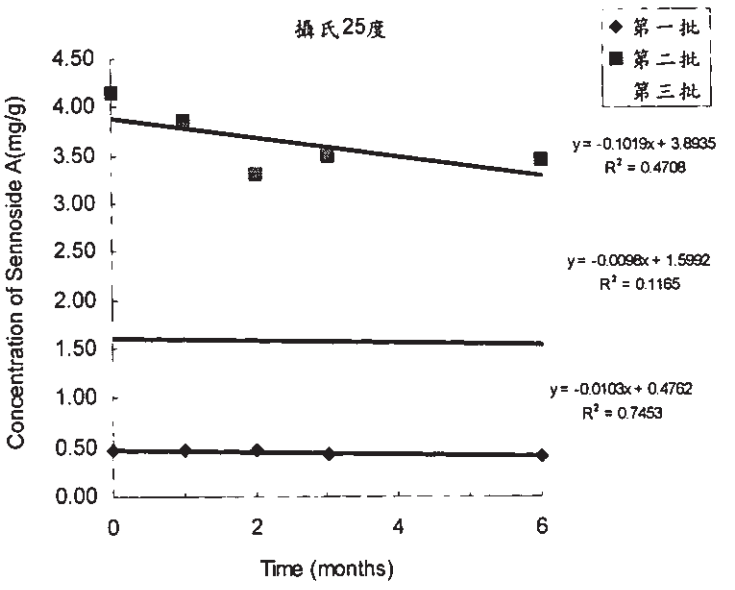
厚朴: honokiol (55.68), magnolol (57.40)。

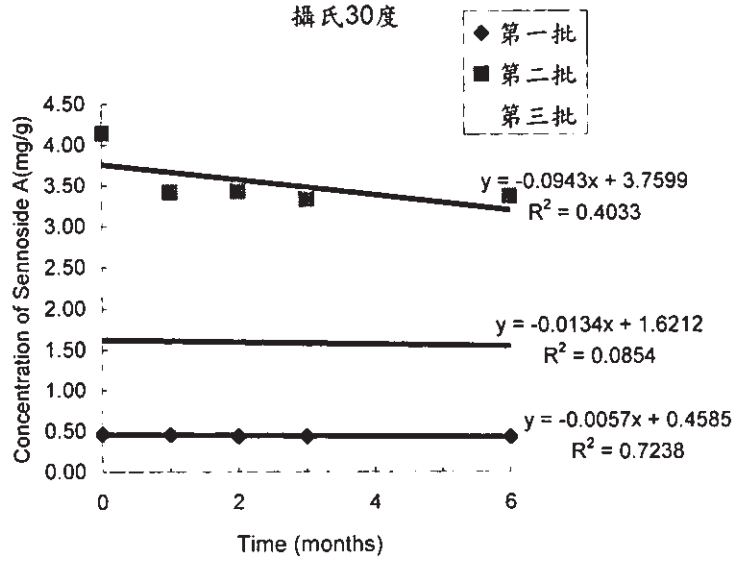
甘草: glycyrrhizin (21.40)。

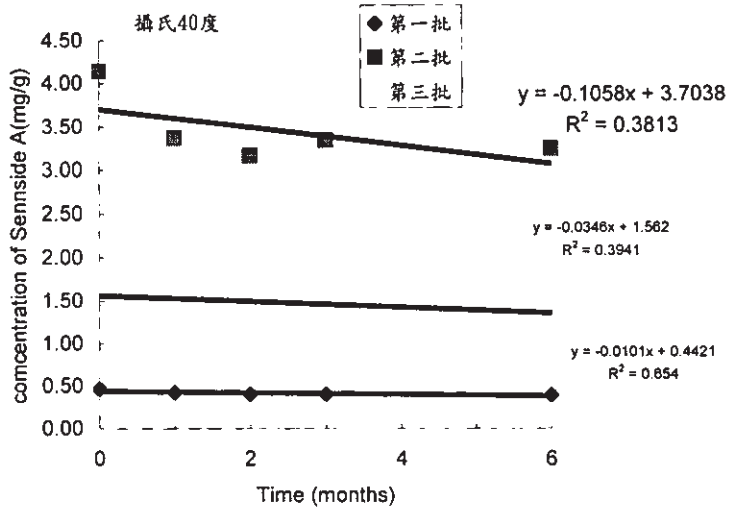
指標成分: (RT, min)。



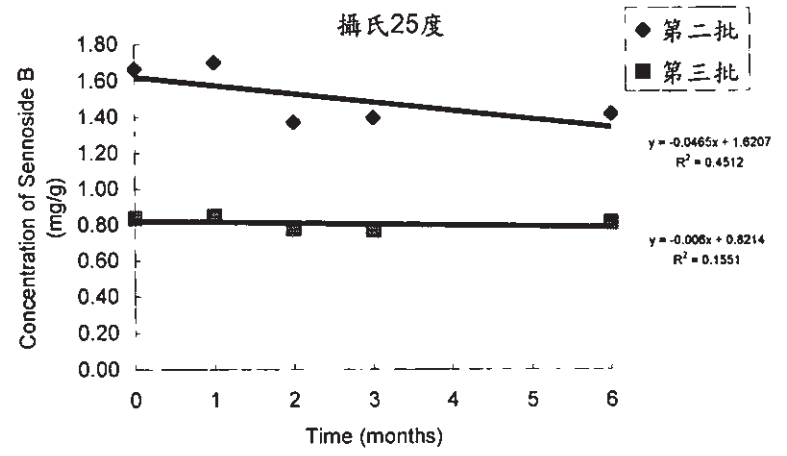
圖四、調胃承氣湯於室溫（25℃）下酸鹼度之影響圖。

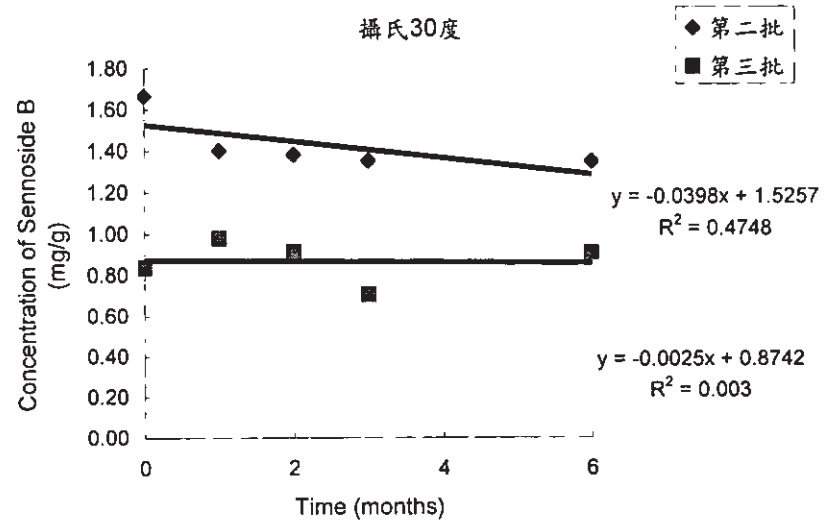


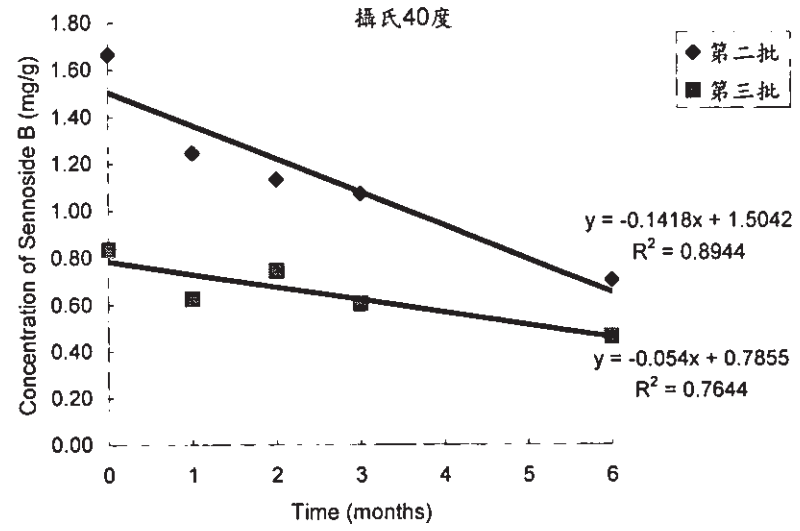




圖五之一、調胃承氣湯於不同溫度下貯存不同時間之 Sennoside A 濃度變化圖。







圖五之二、調胃承氣湯於不同溫度下貯存不同時間之 Sennoside B 濃度變化圖。

表一、調胃承氣湯之同日及異日分析

	Sennoside A		Sennoside B	
	M±SD	RSD	M±SD	RSD
同日分析	25.5±2.9	11.37%	23.7±0.4	1.69%
異日分析	23.4±1.3	5.56%	23.9±0.7	2.93%
添加回收率	103.14%		96.18%	

表二、市售調胃承氣湯之 **Sennosides A** 及 **B** 之含量

	Sennoside A	Sennoside B
市售一	8.7±0.0	3.8±0.7
市售二	7.9±0.5	2.5±0.5
市售三	7.7±0.4	7.6±0.9
市售四	1.1±0.1	0.4±0.0

表三、大黃與調胃承氣湯中 **Sennosides A** 及 **B** 之移行率

	原藥材		標準方		製劑	
	Sennoside A	Sennoside B	Sennoside A	Sennoside B	Sennoside A	Sennoside B
大黃	24.1±1.0	28.1±0.4	17.9±0.7	14.9±1.9	8.7±0.5	5.3±0.5
調胃承氣湯	10.3	10.5±0.2	9.4±0.2	12.2	1.25	0.8
移行率	62.63%	57.26%	47.49%	18.12%	85.63%	84.90%

表四、酸鹼度於室溫（**25**℃）下對調胃承氣湯中 **Sennosides A** 及 **B** 之影響

	mg/g	
pH值	Sennoside B	Sennoside A
1	0.79	2.23
2	0.58	2.04
3	0.50	1.45
4	0.99	2.46
5	1.00	2.53
6	0.57	1.82
7	0.58	1.60
8	0.59	1.71
9		0.78

表五之一、調胃承氣湯於不同溫度下貯存不同時間之 Sennoside A 之殘餘量

錦紋大黃（第一批）			酒製大黃（第二批）			藥用大黃(第三批)		
溫度 (℃)	貯存時間 (月)	殘餘量 (%)	溫度 (℃)	貯存時間 (月)	殘餘量 (%)	溫度 (℃)	貯存時間 (月)	殘餘量 (%)
25	1	99.78	25	1	95.09	25	1	93.19
	2	102.9		2	88.90		2	79.91
	3	93.74		3	93.95		3	84.26
	6	88.29		6	94.42		6	83.25
30	1	97.94	30	1	88.12	30	1	82.41
	2	93.33		2	103.5		2	82.76
	3	93.95		3	92.31		3	80.40
	6	92.27		6	92.33		6	81.10
40	1	90.71	40	1	82.04	40	1	81.28
	2	87.02		2	89.64		2	76.38
	3	86.42		3	90.40		3	80.60
	6	84.41		6	81.25		6	78.28

表五之二、調胃承氣湯於不同溫度下貯存不同時間之 Sennoside B 之殘餘量

錦紋大黃（第一批）			酒製大黃（第二批）			藥用大黃(第三批)		
溫度 (℃)	貯存時間 (月)	殘餘量 (%)	溫度 (℃)	貯存時間 (月)	殘餘量 (%)	溫度 (℃)	貯存時間 (月)	殘餘量 (%)
25	1	ND	25	1	101.1	25	1	102.1
	2	ND		2	92.57		2	82.28
	3	ND		3	91.89		3	83.76
	6	ND		6	96.74		6	85.10
30	1	ND	30	1	117.0	30	1	84.23
	2	ND		2	109.1		2	83.02
	3	ND		3	84.30		3	81.25
	6	ND		6	108.5		6	81.02
40	1	ND	40	1	74.74	40	1	74.78
	2	ND		2	89.29		2	67.99
	3	ND		3	72.36		3	64.39
	6	ND		6	55.57		6	42.42

ND: 無法偵測得到。