

計畫編號：CCMP94-RD-007

行政院衛生署九十四年度科技研究發展計畫

建立中藥化學指紋圖譜影像辨識之技術平臺
To Construct An Image Recognition Platform to Identify
the Fingerprint of Chinese Medicine

研究報告

計畫委託機關：中國醫藥大學

計畫主持人：溫國慶 趙銘

研究人員：李珮端 徐素蘭 侯鈺琪 張誌祥 楊詩盈 張嘉麟 夏麒盛
林于菁

執行期間：94年1月1日至94年12月31日

** 本研究報告僅供參考，不代表本署意見 **

目錄

圖次.....	4
表次.....	7
中文摘要.....	8
英文摘要.....	10
壹、前言.....	12
貳、材料與方法.....	15
參、結果與討論.....	21
肆、結論與建議.....	28
伍、參考文獻.....	29
陸、圖.....	32
柒、表.....	54
捌、附件.....	58
玖、研究計畫成果報告自我評估表.....	59

圖次

圖 1-1 重疊峰.....	32
圖 1-2 化合物含量極低區之表示圖.....	32
圖 1-3 參考峰.....	32
圖 2 特徵抽取結果.....	33
圖 3 陳皮的 NMR 圖譜.....	34
圖 4 橘紅的 NMR 圖譜.....	35
圖 5 青皮的 NMR 圖譜.....	36
圖 6 枳殼的 NMR 圖譜.....	37
圖 7 枳實的 NMR 圖譜.....	38
圖 8-1 陳皮的 score plot PC1 與 PC2.....	39
圖 8-2 陳皮的 score plot PC1 與 PC3.....	39
圖 9-1 陳皮的 loading plot PC1.....	40
圖 9-2 陳皮的 loading plot PC2.....	40
圖 9-3 陳皮的 loading plot PC3.....	40
圖 10-1 橘紅的 score plot PC1 與 PC2.....	41
圖 10-2 橘紅的 score plot PC1 與 PC3.....	41

圖 11-1 橘紅的 loading plot PC1.....	42
圖 11-3 橘紅的 loading plot PC3.....	42
圖 11-2 橘紅的 loading plot PC2.....	42
圖 12-1 青皮的 score plot PC1 與 PC2.....	43
圖 12-2 青皮的 score plot PC1 與 PC3.....	43
圖 13-1 青皮的 loading plot PC1.....	44
圖 13-2 青皮的 loading plot PC2.....	44
圖 13-3 青皮的 loading plot PC3.....	44
圖 14-1 枳殼的 score plot PC1 PC2.....	45
圖 14-2 枳殼的 score plot PC1 PC3.....	45
圖 15-1 枳殼的 loading plot PC1.....	46
圖 15-2 枳殼的 loading plot PC2.....	46
圖 15-3 枳殼的 loading plot PC3.....	46
圖 16-1 枳實的 score plot PC1 PC2.....	47
圖 16-2 枳實的 score plot PC1 PC3.....	47
圖 17-1 枳實的 loading plot PC1.....	48
圖 17-2 枳實的 loading plot PC2.....	48

圖 17-3 枳實的 loading plot PC3.....	48
圖 18 參與研討會人員.....	49
圖 19 HPLC 使用情形.....	49
圖 20 NMR 使用情形.....	50
圖 21 對於 HPLC 所作辨識的模糊分群法(Fuzzy clustering)中的 Possibility C-Mean(PCM)的概念.....	50
圖 22 對於 NMR 所作統計方法，多變數分析(Multiple variance analysis) 中的 Principal component analysis(PCA)的統計方法的概念.....	51
圖 23 覺得 HPLC 配合上 PCM 的辨識方法，對於中藥的指紋圖譜辨識 是否有益.....	51
圖 24 對於 HPLC 指紋辨識圖譜在該廠/該單位應用於品管之可行性....	52
圖 25 覺得 NMR 配合上 PCA 的統計方法，對於中藥的指紋圖譜辨識是 否有益.....	52
圖 26 對於 NMR 指紋辨識圖譜在該廠/該單位應用於品管之可行性	53
圖 27 覺得當天的演講對於未來研究/中藥辨識是否有益.....	53

表次

表 1 青皮特徵峰之滯留時間及面積表.....	54
表 2 青皮特徵抽取結果之特徵向量表.....	54
表 3-1 青皮之偽品偵測結果.....	54
表 3-2 有偽品及無偽品情況下之青皮群聚中心對照表.....	54
表 4-1 枳殼中藥材之偽品偵測結果.....	55
表 4-2 有偽品及無偽品情況下枳殼群聚中心對照表.....	55
表 5-1 枳殼中藥材之偽品偵測結果.....	55
表 5-2 有偽品及無偽品情況下枳殼群聚中心對照表.....	56
表 6-1 陳皮中藥材之偽品偵測結果.....	56
表 6-2 有偽品及無偽品情況下陳皮群聚中心對照表.....	56
表 7-1 橘紅中藥材之偽品偵測結果.....	57
表 7-2 有偽品及無偽品情況下橘紅群聚中心對照表.....	57

編號：

建立中藥化學指紋圖譜影像辨識之技術平臺

溫國慶

中國醫藥大學

摘要

本計畫之目的為以模糊理論(fuzzy theory)與多變數分析(Multiple variances analysis)為基礎，先行透過中藥外觀與顯微辨識經驗，再建立提供使用者一個快速、精準之中藥標準化之技術平臺。使用溶媒對中藥進行萃取，並利用高效液相層析儀(HPLC)及核磁共振(NMR)技術，得到其參考標準圖譜，然後運用影像處理技術，抽取層析圖譜及 NMR 圖譜上的特徵資訊，並利用此資訊建構「中藥材層析圖譜及 NMR 圖譜影像資料庫」。

就上述圖譜採用從粗糙到細緻「Coarse to fine matching model」的比對模式進行辨識，在「Fine matching」階段則利用文獻所載成分及已往從事之品管經驗所建構而成之多個歸屬函數(membership function)得到多個歸屬度(grade of membership)，並以歸屬度做相似度之判別。而在多變數分析當中，將 NMR 圖譜進行全圖譜的積分，再將積分圖

進行分割，然後再將分割值進行全圖譜的統計。而後，對未知或有疑問的藥材或中藥依本計畫所訂定之標準程式，就所取得之層析圖譜及 NMR 圖譜進行比對。

而由結果顯示，HPLC 配合上模糊理論對於真偽品的辨識度高。而 NMR 配合多變數分析則對於中藥的全成分分析具有辨識的能力。此技術平臺可以藉由不同的辨識，以確保藥材的正確使用。

關鍵詞：層析指紋圖譜，核磁共振指紋圖譜，影像辨識，模糊理論，多變數分析

To Construct An Image Recognition Platform to Identify the Fingerprint of Chinese Medicine

Wen, Kuo-Ching

China Medical University

ABSTRACT

The aim of this project is to establish a rapid and accurate technique platform for identification of Chinese herbs based on fuzzy theory of image recognition and principal analysis of multiple variances method. Chinese herbs, whose origins being identified by morphology and microscopic examination, were extracted by solvents and the extracts were analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC) and nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR) to obtain the HPLC and NMR fingerprints, respectively.

The characteristic informations of HPLC and NMR fingerprints were extracted using the technique of image treatment, and the image libraries of HPLC and NMR fingerprints of herbs were thus established. The fingerprint images obtained were recognized by the comparison model using coarse to fine matching. In the fine matching stage, multiple membership functions were constructed for constituents of Chinese herbs, which have been reported in the literature or identified previously in our laboratory, and multiple grades of membership were obtained. Then, the degree of similarity will be determined according to the multiple grades of membership in the fingerprints. In multiple variances analysis, the NMR spectra were analyzed and calculated statistically by principal component analysis (PCA) method.

Our results showed that, the recognition of HPLC linking with fuzzy theory is very precise. The recognizing ability of NMR with the multiple variances method regarding the entire ingredient analysis of Chinese medicine is also good and may guarantee the use of raw material.

The present technique platform of image recognition can be used to clarify unknown or suspected Chinese herbs. It is anticipated that misuse of Chinese herbs will thus be avoided and the quality assurance of crude drugs will also be provided.

Keywords: High performance liquid chromatographic fingerprint spectra, nuclear magnetic resonance fingerprint spectra, image recognition, fuzzy theory, multiple variance analysis

壹、前言

中藥是中華民族的一大瑰寶，具悠久的使用歷史，有其完整基本理論架構。但中藥的療效與藥材品質有著密不可分的關係，中藥材之鑑別及成分含量測定向來是其品質標準規格的核心部分【1】。我國中藥材種類繁多，來源複雜，各地藥材品種使用習慣不盡相同，常有同名異物、同物異名現象。市場上時有以假亂真、以劣充優的情況。商品市場除正品外，尚有代用品、偽品和混淆品，品質差異很大【2】。因此，為了確保中藥產品的安全有效，保障中藥材成分的一致性，建立一種準確、迅速、簡便的品質鑒定與規格化的方法應為一重要之任務。

正確的用藥，是藥物具療效之首要因素，五官鑑別為早期中藥鑑別之方式，但藥材的外觀性狀易受多種因素的影響而變化。因此，需要更客觀之方法來鑒定中藥。顯微鑑別主要是利用顯微鏡觀察藥材的內部組織構造、細胞形狀及其內含物的特徵，用以鑒定藥材的真偽【3】。而近年來常用的指標成分定量分析法卻無法定性，且僅能對少數已知成分提供含量訊息，因此亦有所不足。

近來許多中藥研究者利用分析儀器，獲得各類不同之訊息，並試圖以此作為藥材定性與定量規格化之方法，例如層析圖譜鑒別(薄層層析圖譜、氣相層析圖譜、高效液相層析圖譜等)、光譜鑒別(紫外、紅外、螢光、原子吸收、核磁共振、質譜、X-射線繞射等)【4】。美國食品藥物管理局於植物藥產品之指引 (Guidance for Industry Botanical Drug Products)【5】，規定對於其原料之鑑別須檢附分光光度圖譜 (如UV, IR, FT-IR, MS) 及層析指紋圖譜 (如TLC,

2D-TLC, HPLC, GC)。世界衛生組織亦接受此技術以確保植物性藥品原料及成品品質之一致性【6】。

上述方法中如液相層析圖譜，在特定之分析條件下，會於特定之時間內展現其所含有之已知與未知成分的層析圖譜，具極高之鑑別度，且其兼具定性藥材真偽與藥材全成分組成分布之特性，極具開發作為產品規格化工具之價值。以具特徵性之液相層析指紋圖譜做為鑑別者亦有文獻報導【7】。

NMR 圖譜亦具類似之特性，也很適合用來作為產品規格化工具。Bundy 等【8】提出利用相關主成分之 NMR 可做為植物、微生物及蟲類之化學分類。近年來相繼有利用 NMR 指紋圖譜鑑別藥材之報導【9-12】，顯見其具優越性，相較於 HPLC 指紋圖譜，較不受 HPLC 之移動相改變圖譜亦會隨之改變的缺點。

上述個別藥材的圖譜建立後，由於受限於缺乏客觀的分析判斷工具，因而較易產生不一致之結論。利用高效液相層析法及核磁共振(NMR)技術，在一定條件下所測得之圖譜，加上影像辨識技術及統計分析軟體，希望分辨藥材於圖譜上呈現之特徵波峰【13】，並計算每一特徵波峰之面積，提供量化之分析判斷工具，提供藥材規格化之量化參考，充分掌控中藥成分含量與組成的一致性。同時指紋圖譜的作用除了如上所述可提供藥材規格化之參考外，亦可用於辨識不同藥材，同時針對於中藥製劑作全面品質之控制和檢驗是否有摻假情形。透過瞭解藥材整體成分組成變化狀況，以掌握中藥製劑的品質控制在一定的範圍之內【14-17】。建立指紋圖譜影像辨識的意義就在於突破現狀，藉由不同領域的結合，充分利用現代科學技術提供中藥產品規格化的方法【18,19】。

希望透過不同領域技術的結合，能使中藥品質管制之方法能更完善，也希望「中藥化學指紋圖譜影像辨識之技術平台」能提供中藥更高精準度及高效率的品管方法，以監控其產品品質，確保其臨床療效，提昇中藥在國際市場上之競爭力【19-21】。

貳、材料與方法

一、中藥材之收集

本計畫之樣品青皮、陳皮、枳實、枳殼、橘紅等五種選自全省北中南三區共八家並包括可能摻假之中藥材，以及藥廠提供之檢品共計十九件，作為本技術之基本材料。

二、檢品之製備

(一) 供 HPLC 指紋圖譜分析之檢品—水煎劑檢品之製備

精確稱取各種藥材 5.0 g，剪成碎片後以 100 cc 之冷水加熱至沸騰，沸騰後轉為小火繼續煎煮，至體積稍少於 50 cc，以紗布趁熱過濾後並定容至 50 cc，置於-30°C 冷凍儲存備用。

取上述檢品 3 mL 加入 7 mL 甲醇振盪混合，以 14000 rpm 離心 15 分鐘，取其上清液並以 0.45 μm 微孔過濾器過濾之。取 20-50 μL 進行 HPLC 分析，以梯度沖提來獲得層析圖譜。

(二) 供 ^1H NMR 指紋圖譜分析之檢品

藥材以磨粉機磨碎，過 120 號篩網，其中陳皮、化橘紅與青皮取 250 mg 藥材粉末以 2.5 mL D_2O 萃取；枳實取 250 mg 藥材粉末以 2 mL D_2O 萃取；枳殼取 100mg 藥材粉末以 2 mL D_2O 萃取。所有的檢品以超音波震盪 30 分鐘，每個檢品中添加 Trimethylsilane propionic acid sodium salt (TSP) 為內標，供 ^1H NMR 測定。

(三) 高效液相層析儀(HPLC)之分析條件

1. 層析管：Cosmosil waters 5C-18-AR-II (4.6*150mm)
2. 移動相：使用梯度沖提，分別使用 acetonitrile (ACN)與二次水(H₂O)作為移動相，比例如下

Time	0	10	11	13	14	17	18	22	23	30
A (ACN)	20	20	50	50	0	0	60	60	20	20
B (H ₂ O)	80	80	50	50	100	100	40	40	80	80

3. 流速: 0.9 mL/min
4. 檢測波長: 220 nm (經 photodiarray 由波長 190~370nm 掃描，波長 220nm 時波峰最多)

(四) ¹H NMR 指紋圖譜之測定

D₂O 萃取之檢品分別測定其 ¹H NMR 全圖譜以及抑制溶媒波峰的全圖譜。

NMR 機器：Bruker AV-400；以 400.13 MHz 測定。

TSP 作為 0 ppm 的內標，除枳殼之外其餘每個檢品以 64 scan number 進行全圖譜掃描；枳殼以 128 scan number 進行全圖譜掃描。所有的圖譜均使用 XWIN NMR (version 3.5, Bruker)軟體測定。

(五) HPLC 圖譜辨識

1. 辨識(Recognition)

模糊理論(Fuzzy Theory)【22-24】在 1965 年由美國加州柏克萊大學的 Zadeh

教授所提起。模糊集合(fuzzy set)和傳統的集合 (crisp set)最主要的差別在於，模糊集合內的物件利用歸屬函數(membership function)的設計可部份歸屬於模糊集合，物件之歸屬程度(grade of membership)介於閉區[0,1]間區之任一實數，其高低可以看成物件歸屬於模糊集合的適切性，數值愈高代表相似性愈高，反之愈低，而不是傳統集合理論的完全歸屬。

先對每批中藥材進行認知(cognize)，完成認知之後，可對未知藥材進行辨識的動作，以「Coarse to Fine Matching」模式【25】進行比對的動作，留下相似度較高之藥材進入「Fine Matching」階段。而在「Fine Matching」階段中有一個基本要求，那就是要能提供未知中藥材和進入「Fine Matching」階段中每個中藥材之相似度多少，會因栽培環境、土壤及採收季節的不同會使化學成分常常存在些微之差異，如波峰之左右平移及波峰高度因化學含量之多寡而有高低不一的情況，故需有一個模糊的區間，誤差以供參考。

在「Fine Matching」階段，設計模糊理論在波峰水平位差字集(universe of discourse) X 上之之模糊集合 A 及面積差字集 Y 上之模糊集合 B 。當任一水平位差 x 、面積差 y 對應於模糊集合 A 、 B 時，分別會有歸屬度為 $\mu_A(x)$ 及 $\mu_B(y)$ (此二值介於閉區間[0,1])，分別代表 x 、 y 對於模糊集合 A 、 B 之歸屬程度，其值愈高代表愈相似。而後依特徵之重要程度，給予模糊集合 A 、 B 之權值 α 、 β ($\alpha + \beta = 1$)。最後依 α 乘 $\mu_A(x)$ 及 β 乘 $\mu_B(y)$ 之加總(sum)值代表最後的相似度。

在這一個部分，使用模糊理論(Fuzzy theory)中的模糊分群法(Fuzzy clustering)的 Possibility C-Mean (PCM)作為影像辨識的基礎，而 PCM 函數需要

滿足下列算式。

● PCM目標函式

$$J_m(L, U) = \sum_{i=1}^C \sum_{k=1}^N (\mu_{ik})^m d^2_{ik} + \sum_{i=1}^C \eta_i \sum_{k=1}^N (1 - \mu_{ik})^m \quad (1)式$$

其中 μ_{ik} 須滿足

$$\mu_{ik} \in [0, 1], \forall i, k;$$

$$0 < \sum_{k=1}^N \mu_{ik} \leq N, \forall i;$$

$$\max_k \mu_{ik} > 0, \forall k.$$

(2)式

m : 模糊因子 (fuzzifier)

$$L = (v_1, v_2, \dots, v_i, \dots, v_C)$$

v_i 是第 i 群的中心

U 是模糊分割

μ_{ik} 為 sample X_k 屬於第 i 群的可能性

d 是 sample X_k 和 v_i 的尤拉距離

模糊分割 U 由 member update equation 而來

$$\mu_{ik} = \frac{1}{1 + \left(\frac{d^2_{ik}}{\eta_i} \right)^{\frac{1}{m-1}}} \quad (3)式$$

群的中心是由 center update equation 所得

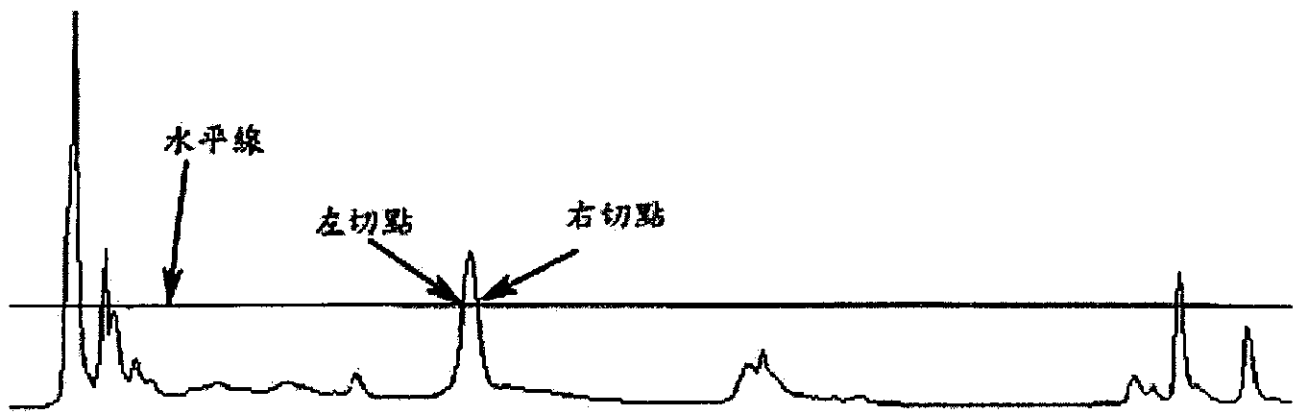
$$v_i = \frac{\sum_{k=1}^N (\mu_{ik})^m X_k}{\sum_{k=1}^N (\mu_{ik})^m}, \forall i \quad (4)式$$

(1)式中的 η_i 計算如下

$$\eta_i = K \frac{\sum_{k=1}^N \mu^m_{ik} d^2_{ik}}{\sum_{k=1}^N \mu^m_{ik}} \quad (5) \text{式}$$

η_i 的計算群聚內部所有 samples 和群聚中心的平均距離成比例，而 K 常是 1

- 故 PCM 的演算法可以設定為
- Step 1. 設定群數 C 、模糊化因子 $1 < m < \infty$ 及 ε ，設定計數器 $l = 0$ ，初始化 $U^{(0)}$ ，利用(5)式求 η_i
- Step 2. 依(4)式及 $U^{(l)}$ ，計算 $L^{(l+1)}$
- Step 3. 依(3)式及 $L^{(l+1)}$ ，計算 $U^{(l+1)}$
- Step 4. $l = l + 1$
- Step 5. 若 $|U^{(l+1)} - U^{(l)}| < \varepsilon$ 結束。否則跳至 Step 2



切點: 左切點搜尋左波谷, 右切點搜尋右波谷

水平線: 其移動方向則由圖譜上方往圖譜下方移動, 直到搜尋之切點數大於或等於目標切點數

目標切點數則是峰數的兩倍

(六) NMR 圖譜分析與統計

NMR 圖譜使用 AMIX (v. 3.7, Bruker Biospin) 做為數值轉換, 如同 HPLC 部分, 所有的圖譜在電腦當中就是由一堆 0 與 1 組合而成, 所以經由 AMIX 轉換時, 可以設定 TSP 的波峰為 10000 作為積分標準, 而其他的波峰程度則是以 TSP 作為標準進而以相對於 10000 的百分比出現。接著, 將圖譜從 0.4 ppm 到 10 ppm 間以每 0.04 ppm 的間隔, 以積分的圖譜作特徵分割, 其中將 4.7 ppm 到 4.8 ppm 的水殘餘信號消除以免影響統計結果。接著將積分的數值轉存成 txt 檔案, 然後以 SIMCA-P 軟體 (v. 10.0, Umetrics, Umeå) 進行 principal components analysis (PCA)。此方法目前已廣泛運用在一些檢測大麻品種(26)、Strychnos (27)、忍冬科植物(9)、*Symphoricarpos albus* 中的 secologanin 測定(28)、, 銀杏製劑中的銀杏苷含量(29)和銀杏葉中銀杏酸含量的測定(30)。

參、結果與討論

一、HPLC 部分

特徵抽取模組對整個系統非常重要，因為一方面要快速抽取圖譜特徵，另一方面更要盡可能保證特徵抽取的正確性及特徵的代表性。其中在圖譜的取得過程當中，會因 HPLC 的物理性質和中藥本身所具有的複雜性多或含量有些極低雜峰，包括重疊峰如圖 1-1 之方格區域及化合物含量極低的峰如圖 1-2 之方格區域。另外在計算特徵向量時，由於我們採用比值 Relative Retention Time (RRT)及 Relative area(RA)以 PCM 為基礎之中藥指紋圖譜影像辨識平台之研究計算特徵，因此必需選定參考峰，而若以最高峰或面積最大峰為參考峰時，會因中藥的模糊性發生問題，因此我們選擇所抽取到的第一個波峰為參考峰如圖 1-3 所示。

故當完成指紋圖譜的檔案之後，依照上列方法將特徵抽取出來，包含波峰與特徵向量(波峰數、波峰滯留時間比值與波峰面積比值)。

以青皮為例，其特徵抽取圖如圖 2 表示，可看到共有 6 個波峰，12 個切點，以 1 號峰當作參考峰，所以其面積最大，其餘 2-6 號的波峰面積皆是以相對於 1 號峰的比值，其特徵峰之滯留時間及面積表結果如表 1，特徵抽取結果之特徵向量表如表 2。

(一) 系統對青皮中藥材的偽品偵測

在此實驗當中，我們於青皮這類中藥材內，放入兩個從其它類別藥材中隨機取的樣本當成偽品，並置於表 3-1 的編號 1 及編號 2 位置，而表 3-1 的編號 3

到編號 10 則是青皮正品或替代品，實驗結果繪製如表 3-1。由表 3-1 所示，系統對青皮這類中藥材中含有偽品時，能在編號 1 與編號 2 的位置，分別以極低的歸屬可能性 0.0356 與 0.1102 偵測出偽品，其餘編號 3 至編號 10 的青皮正品或替代品則都有 0.9 以上的高歸屬可能性。對於群聚中心，在有偽品及無偽品的情況下，青皮的群聚中心對照表如表 3-2 所列。由表 3-2 可看出，群聚中心不會因偽品而有明顯的改變。故系統對於青皮這類中藥材含有偽品時，能有良好的容錯性要求。

(二) 系統對枳殼中藥材的偽品偵測

在此實驗當中，我們於枳殼這類中藥材內，放入兩個從其它類別藥材中隨機取的樣本當成偽品，並置於表 4-1 的編號 1 及編號 2 位置，而表 4-1 的編號 3 到編號 10 則是枳殼正品或替代品，實驗結果繪製如表 4-1。由表 4-1 所示，系統對枳殼這類中藥材中含有偽品時，能在編號 1 與編號 2 的位置，分別以極低的歸屬可能性 0.3997 與 0.3738 偵測出偽品，其餘編號 3 至編號 10 的枳殼正品或替代品則都有 0.9 以上的高歸屬可能性。對於群聚中心，在有偽品及無偽品的情況下，枳殼的群聚中心對照表如表 4-2 所列。由表 4-2 可看出，群聚中心不會因偽品而有明顯的改變。故系統對於枳殼這類中藥材含有偽品時，能有良好的容錯性要求。

(三) 系統對枳實中藥材的偽品偵測

在此實驗當中，我們於枳實這類中藥材內，放入兩個從其它類別藥材中隨機取的樣本當成偽品，並置於表 5-1 的編號 1 及編號 2 位置，而表 5-1 的編號 3

到編號 10 則是枳實正品或替代品，實驗結果繪製如表 5-1。由表 5-1 所示，系統對枳實這類中藥材中含有偽品時，能在編號 1 與編號 2 的位置，分別以極低的歸屬可能性 0.0364 與 0.1028 偵測出偽品，其餘編號 3 至編號 10 的枳實正品或替代品則都有 0.9 以上的高歸屬可能性。對於群聚中心，在有偽品及無偽品的情況下，枳實的群聚中心對照表如表 5-2 所列。由表 5-2 可看出，群聚中心不會因偽品而有明顯的改變。故系統對於枳實這類中藥材含有偽品時，能有良好的容錯性要求。

(四)系統對陳皮中藥材的偽品偵測

在此實驗當中，我們於陳皮這類中藥材內，放入兩個從其它類別藥材中隨機取的樣本當成偽品，並置於表 6-1 的編號 1 及編號 2 位置，而表 6-1 的編號 3 到編號 10 則是陳皮正品或替代品，實驗結果繪製如表 6-1。由表 5.11 所示，系統對陳皮這類中藥材中含有偽品時，能在編號 1 與編號 2 的位置，分別以極低的歸屬可能性 0.1352 與 0.0992 偵測出偽品，其餘編號 3 至編號 10 的陳皮正品或替代品則都有 0.9 以上的高歸屬可能性。對於群聚中心，在有偽品及無偽品的情況下，陳皮的群聚中心對照表如表 6-2 所列。由表 6-2 可看出，群聚中心不會因偽品而有明顯的改變。故系統對於陳皮這類中藥材含有偽品時，能有良好的容錯性要求。

(五)系統對橘紅中藥材的偽品偵測

在此實驗當中，我們於橘紅這類中藥材內，放入兩個從其它類別藥材中隨機取的樣本當成偽品，並置於表 7-1 的編號 1 及編號 2 位置，而表 7-1 的編號 3

到編號 10 則是橘紅正品或替代品，實驗結果繪製如表 7-1。由表 7-1 所示，系統對橘紅這類中藥材中含有偽品時，能在編號 1 與編號 2 的位置，分別以極低的歸屬可能性 0.3380 與 0.1965 偵測出偽品，其餘編號 3 至編號 10 的橘紅正品或替代品則都有 0.9 以上的高歸屬可能性。對於群聚中心，在有偽品及無偽品的情況下，橘紅的群聚中心對照表如表 7-2 所列。由表 7-2 可看出，群聚中心不會因偽品而有明顯的改變。故系統對於橘紅這類中藥材含有偽品時，能有良好的容錯性要求。

二、NMR 部分

NMR 圖譜具有與 HPLC 類似之特性，也很適合用來作為產品規格化工具。Bundy 等【8】提出利用相關主成分之 NMR 可做為植物、微生物及蟲類之化學分類。近年來相繼有利用 NMR 指紋圖譜鑑別藥材之報導【9-12】，顯見其具優越性，相較於 HPLC 指紋圖譜，較不受 HPLC 之移動相改變圖譜亦會隨之改變的缺點。配合上多變數分析的方法則可以在沒任何 data base 的情況下對於整個藥材的全體進行統計。

(一) 中藥材的 NMR 圖譜

所有的藥材經磨碎後，過 120 號篩網，以 D₂O 萃取，使用 BrukerAV400，頻率為 400.133 MHz 進行全圖譜的掃描，每個 sample 以 64 scan number (除枳殼外，枳殼為 128) 分析並以 Trimethylsilane propionic acid sodium 作為 0 ppm 的 internal standard，所有的 NMR spectra 經由程式轉換成數值後，使用 PCA 分析。NMR 圖譜如下：陳皮(圖 3)、橘紅(圖 4)、青皮(圖 5)、枳殼(圖 6)、枳實(圖 7)。

(二) NMR 圖譜統計與分析

使用 PCA 分析數據，PCA 為多變數分析的一種分析法，目標是將關係變化物使用多維分佈的資料分析。根據此分析形成直角分佈圖(score plot)。

原始的可變物可被表達作為主要成分的特殊線性組合。且 PCA 是屬於由各主要成分資料集總變化的部份線性疊加性的模型。PC 可以 score plot 來表示分佈情況，以 loading plot 顯示其原始的可變係數。而因為 NMR 數值由化學位移組成，故可以由 loading plot 直接得到影響分佈的化學位移數值。

故藥材的 score plot 與 loading plot 表現如下:陳皮(圖 8-1、8-2、9-1、9-2、9-3)、橘紅(圖 10-1、10-2、11-1、11-2、11-3)、青皮(圖 12-1、12-2、13-1、13-2、13-3)、枳殼(圖 14-1、14-2、15-1、15-2、15-3)、枳實(圖 16-1、16-2、17-1、17-2、17-3)。

1. 陳皮：PC1 可以涵蓋 72.68%的數據，而 PC1,2 可以涵蓋 92.37%的數據。由 score plot of PC1,2 可以看出陳皮 8 號與其他藥材差異大，而陳皮 8 號炮製品之外觀異於其他檢品。其他的陳皮則相距不大。
2. 橘紅：PC1 可以涵蓋 82.72%的數據，而 PC1,2 可以涵蓋 93.80%的數據。確定化橘紅 1-3 為真品。由 score plot of PC1,2 可以看出化橘紅 1-3 號與其他藥材差異大，得知其他均為橘紅而非化橘紅。
3. 青皮：PC1 可以涵蓋 54.12%的數據，而 PC1,3 可以涵蓋 92.23%的數據。由 score plot of PC1,3 可以看出青皮 6 號與其他藥材差異大。
4. 枳殼：PC1 可以涵蓋 68.43%的數據，而 PC1,2 可以涵蓋 81.92%的數據，而

PC1, 3 可以涵蓋 89.83%的數據。由 score plot of PC1,3 可以看出枳殼-KD 與其他藥材差異大，而 ST、SC、RX 的藥材也與一般市售品不同。其他的枳殼則相距不大。

5. 枳實：PC1 可以涵蓋 83.13%的數據，而 PC1, 2 可以涵蓋 88.43%的數據，而 PC1, 3 可以涵蓋 92.73%的數據。由 score plot of PC1, 3 可以看出枳實 9 號與枳實 5 號與其他藥材差異大。

(三)「建立中藥化學指紋圖譜影像辨識之技術平台」說明會問卷結果

依據本計畫審查結果意見，於 11 月 30 日於製藥公會舉行說明會議，進行問卷調查，問卷如附件，總共發出 26 份問卷，回收 21 份，回收率 80.77%。問卷寫者當中有 11 位藥廠人員、6 位學術人員及 4 位為其他(見圖 18)；

21 人當中，有 7 人常常使用 HPLC、10 位有使用過、2 位偶爾用過以及 11 位沒有用過 HPLC (見圖 19) ；

21 人當中，有 2 人常常使用 NMR、6 位有使用過、2 位偶爾用過以及 11 位沒有用過 NMR(見圖 20) ；

21 人當中，有 10 人對於 HPLC 所作辨識的模糊分群法(Fuzzy clustering)中的 Possibility C-Mean(PCM)具有概念，11 人沒有概念(見圖 21) ；

21 人當中，有 7 人對於 NMR 所作統計方法，多變數分析(Multiple variance analysis)中的 Principal component analysis(PCA)的統計方法具有概念，14 人沒有概念(見圖 22)；

21 人當中，8 人覺得 HPLC 配合上 PCM 的辨識方法，對於中藥的指紋圖譜辨

識很有益，10 人覺得還算有益，2 人覺得沒差別，1 人填寫其他項(見圖 23)；

21 人當中，16 人覺得 HPLC 配合上 PCM 的統計方法在該單位屬可行，1 人覺得不可行，4 人填寫其他項(見圖 24)；

21 人當中，7 人覺得 NMR 配合上 PCA 的統計方法，對於中藥的指紋圖譜辨識很有益，8 人覺得還算有益，1 人覺得沒差別，1 人覺得無益，4 人填寫其他項(見圖 25)；

21 人當中，9 人對於 NMR 指紋辨識圖譜在該單位，應用於品管可行，3 人覺得不可行，9 人覺得其他(見圖 26)，主要是提到 NMR 機器價格過高，對於該單位負擔過大；

21 人當中，12 人覺得當天演講對於以後研究/中藥辨識很有益，8 人覺得還算有益(見圖 27)；

由以上問卷統計當天參與者，對以 HPLC 與 NMR 之圖譜影響便是技術平台上作為中藥材管制有認同。尤其是 HPLC 部分，應用於藥廠應屬可行。NMR 則確定於儀器價格及儀器利用率相對不符之情況下，現階段推廣性尚待觀察。

(四)關於結案報告中 NMR 辨識方法與計畫案辨識方法不同之說明

由於 NMR 測定使到用 Bruker 公司的機器，而測定的軟體也是屬於 Bruker 公司的軟體。礙於版權以及軟體設定的機密之故，故對於其 NMR 圖譜最後是選擇使用 Bruker 的 A-mix 軟體來對於藥材作辨識，因為 A-mix 配合上 PCA(principal component analysis)的統計方法，在國外已經實行一段時間，許多期刊也有刊登(26-30)，故最後選擇 NMR plus PCA 的方法來對藥材做分析。

四、結論與建議

在 HPLC 中，模糊分群法(Fuzzy clustering)中的 Possibility C-Mean (PCM) 對於檢品有很好的辨識能力，但是在 HPLC 中因受限於檢示波長，無法有完整的層析圖的出現，故在辨識時，會有所以缺失，且檢品分析時間較長。

在 NMR 中，principal component analysis 分析不需要任何的 data base，但是仍建議分析時與已知的標準品一起比對，這樣可以增加準確性，且分析時間快速，可分析大量檢品。

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 CCMP94-RD-007 提供經費贊助，使本計劃得以順利完成，特此誌謝。

伍、參考文獻

1. 徐麗萍、陳廷紅, "面對新世紀的中藥創新與開發", 山西職工醫學院學報, Vol.10, No.4, Dec 2000.
2. 李玉娟, "中藥材指紋圖譜質量控制方法研究", 中藥新藥與臨床藥理, Vol.12, No.3, May 2001.
3. 沈聯德, 中藥鑑定學, 聯合出版社.
4. 蘇薇薇、吳忠, "中藥指紋圖譜及計算機信息處理", 世界科學技術—中藥現代化 (博士論壇), Vol.3, No.2, 2001.
5. U. S. Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER) June 2004, Guidance for Industry Botanical Drug Products, <http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>
6. World Health Organization, 2000, General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine.
7. SIU-KAY WONG, SHU-KI TSUII, SIK-YIU KWAN, XIAO-LI SU, RUI-CHAO LIN, LI-MING TANG AND JIAN-XING CHEN, 2004, Establishment of Characteristic Fingerprint Chromatogram for the Identification of Chinese Herbal Medicines, Journal of Food and Drug Analysis, 12:110-114.
8. Bundy, J.G., Spurgeon, D.J., Svendsen, C., Hankard, P.K., Osborn, D., Lindon, J.C., Nicholson, J.K., 2002, Earthworm species of the genus Eisenia can be phenotypically differentiated by metabolic profiling, FEBS Letter 521:115-120.
9. 秦海林, 趙天增, 袁衛梅, 尚玉俊, 趙偉, 張靜修, 1999, 虎杖、何首烏和掌葉大黃、唐古特大黃的 $^1\text{H-NMR}$ 指紋圖解析, 藥學學報, 34: 828-834。
10. 秦海林、張建新、王崢濤、楊小生、徐璐珊、郝小江, 2002, 環草石斛的 $^1\text{H-NMR}$ 指紋圖解析, 中國中藥雜誌, 27: 919-923。
11. Choi YH, Tapias EC, Kim HK, Lefeber AW, Erkelens C, Verhoeven JT, Brzin J, Zel J, Verpoorte R, 2004, Metabolic Discrimination of *Cantharanthus roseus* Leaves Infected by *Phytoplasma* using $^1\text{H-NMR}$ Spectroscopy and Multivariate Data Analysis, Plant Physiol. 10:104-
12. Michel Frederich, Young Hae Choi, Luc Angenot, Goetz Harnichfeger, Alfons W.

- M. Lefeber, Robert Verpoorte, 2004, metabolomic analysis of *Strychnos nux-vomica*, *Strychnos icaja* and *Strychnos ignatii* extracts by 1H nuclear magnetic resonance spectrometry and multivariate analysis techniques, *Phytochemistry*, 65:1993-2001.
13. 顏玉貞、盧平華、謝培山, ”西青果與訶子的H P L C指紋圖譜鑒別研究”,
中藥新藥與臨床藥理, Vol.12, No.3, 2001.
14. 謝培山, “中藥色譜指紋圖譜鑒別的概念、屬性、技術與應用”, 中國中藥
雜誌, Vol. 26, No.10, Oct 2001.
15. 聶京、田頌久、王國榮, “中藥指紋圖譜的研究現狀”, 中草藥, Vol.31,
No.12, 2000.
16. 謝培山, “色譜指紋圖譜分析是中草藥質量控制的可行策略”, 中藥新藥與
臨床藥理, Vol.12, No.3, May 2001.
17. 蔡寶昌、潘揚、殷武, ”指紋圖譜在中藥研究中的應用”, 世界科學技術—
中藥現代化 (博士論壇), Vol.2, No.5, 2000
18. 江俊, “中藥質量評價新方法—中藥指紋圖譜”, 湖北中醫學院學報, Vol.3,
No.4, Dec 2001.
19. 周福添等, ”化學計量學方法應用於中藥化學特徵指紋圖譜”, 中藥新藥與
臨床藥理, Vol.12, No.3, May 2001
20. 曹進等, “中藥指紋圖譜及其建立原則”, 中藥新藥與臨床藥理, Vol.12,
No.3, May 2001.
21. 任德權, “中藥指紋圖譜質控技術的意義與作用”, 中藥新藥與臨床藥理,
Vol.12, No.3, May 2001.
22. 王國俊, 認識 Fuzzy, 全華科技圖書, ISBN 957-21-3322-5, 2001.
23. 趙振宇、徐用懋, 模糊理論和神經網絡的基礎與應用, 清華大學出版社,
ISBN 7-302-02061-2, 1996.

24. 楊英魁 校閱, FUZZY 實用化範例-用 C 語言, 全華圖書, ISBN 957-21-0141-2
民 80.
25. L. L. Wang et al., "Content-Based Image Retrieval by Color, Texture, and Shape"
Journal of Computer, Vol.13, No 4, pp.30-43, 2001.
26. Choi YH, Kim HK, Hazekamp A, Erkelens C, Lefeber AWM, Verpoorte R.
Metabolomic differentiation of *Cannabis sativa* cultivars using ^1H NMR spectroscopy
and principal component analysis. J Nat Prod 2004; 67, 953-7
27. Choi YH, Sertic S, Kim HK, Wilson EG, Michopoulou F, Lefeber AWM,
Erkelens C, Verpoorte R. Classification of *Ilex* species based on metabolomic
fingerprinting using NMR and multivariate data analysis. J Agric Food Chem 2005; 53:
1237-45
28. Kim, H. K., Choi, Y. H., Luijendijk, T. J. C., Rocha, R. A. V., Verpoorte, R., 2004.
Comparison of extraction method for secologanin and the quantitative analysis of
secologanin from *Symphoricarpos albus* using ^1H -NMR. Phytochem. Anal. 15,
257-261.
29. Choi, Y. H., Kim, H. K., Hazekamp A., Bermejo P., Schilder Y., Erkelens C.,
Verpoorte, R. 2003. Quantitative analysis of bilobalide and ginkgolides from *Ginkgo*
biloba leaves and Ginkgo products using ^1H -NMR. Chem. Pharm. Bull. 51,1 58-161.
30. Choi, Y. H., Kim, H. K., Peltenburg-Looman, A. M., Lefeber, A. W., Verpoorte, R.
2004a. Quantitative analysis of ginkgolic acids from Ginkgo leaves and products
using ^1H -NMR. Phytochem Anal. 15, 325-330

陸、圖

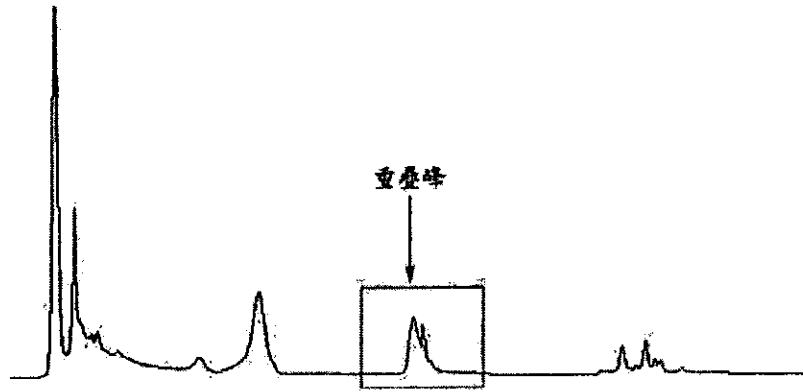


圖 1-1 重疊峰

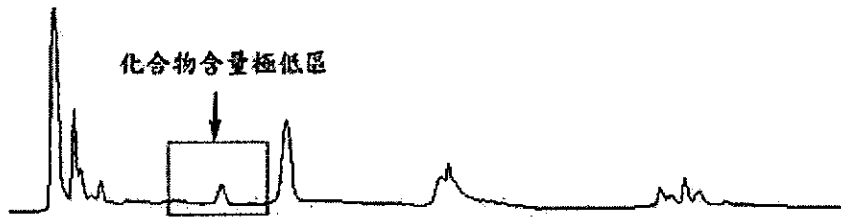


圖 1-2 化合物含量極低區之表示圖

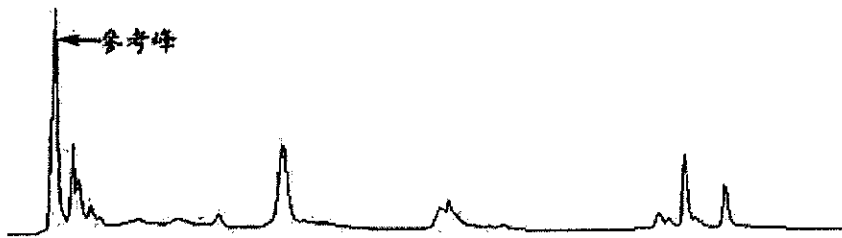


圖 1-3 參考峰

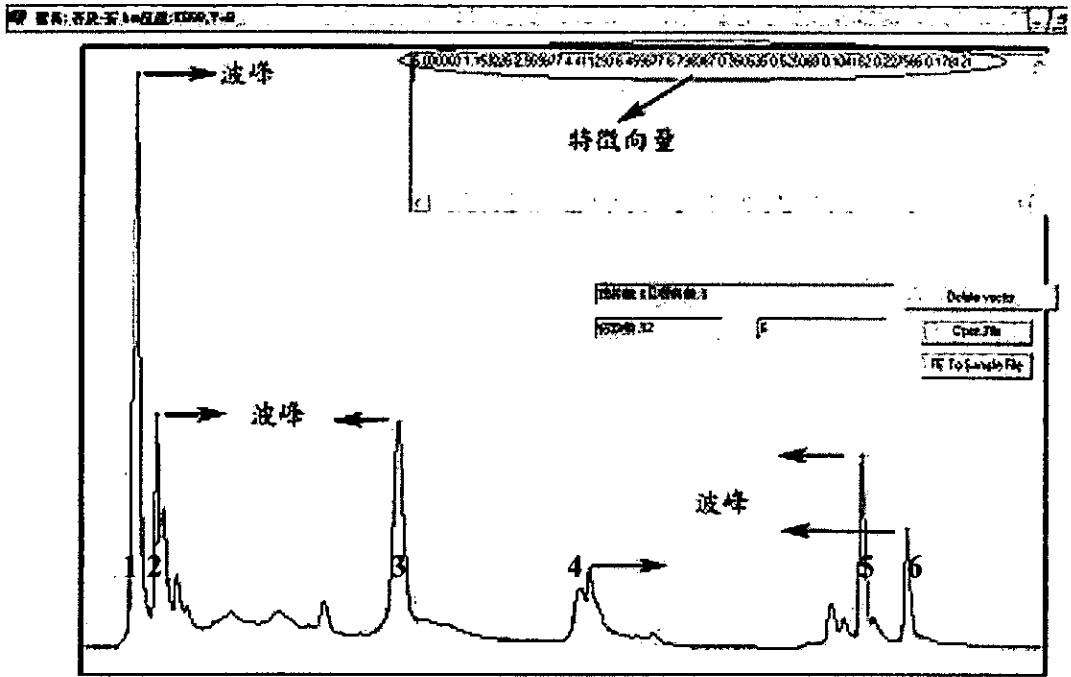


圖 2 特徵抽取結果

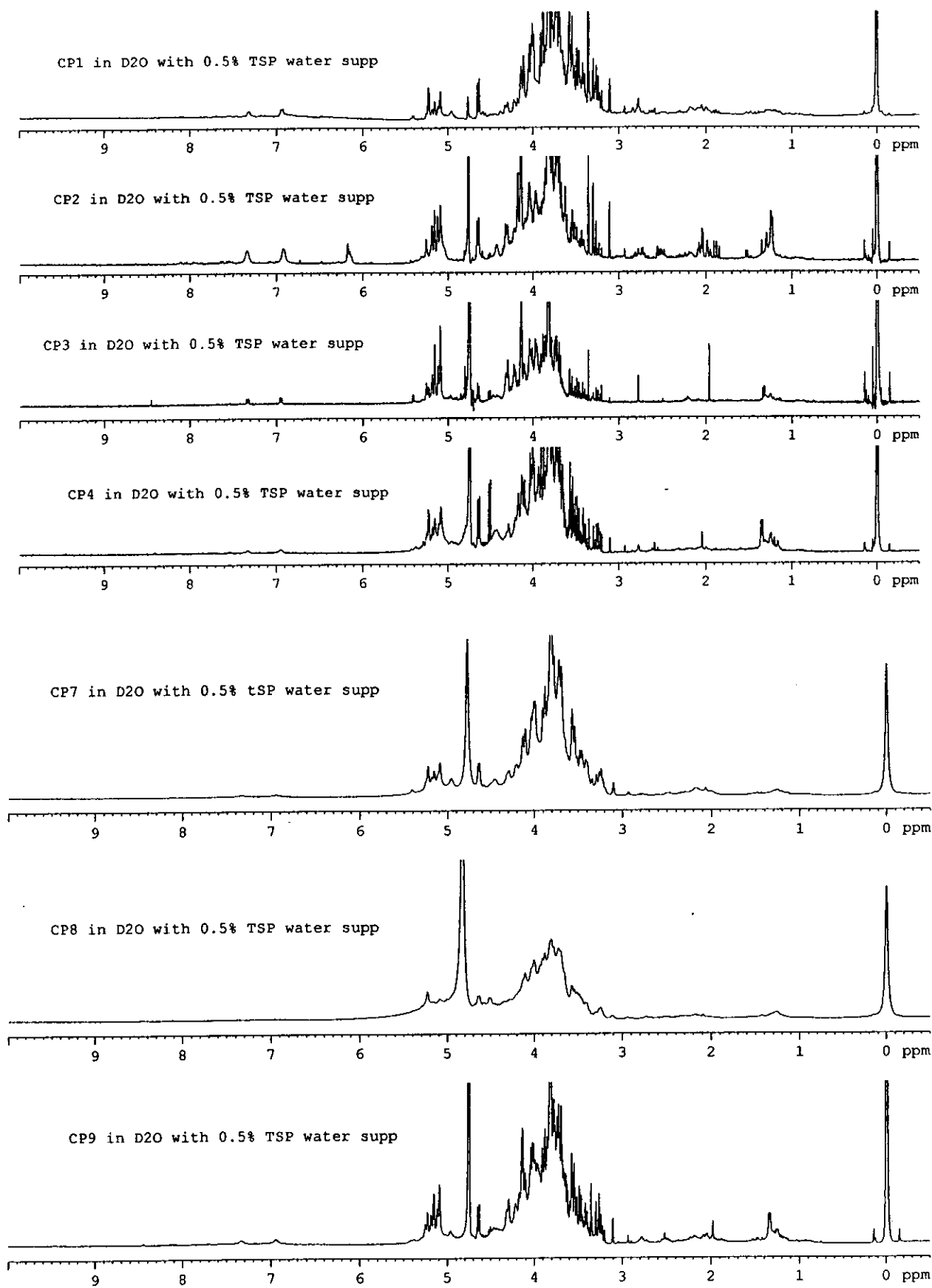


圖3 陳皮的NMR圖譜

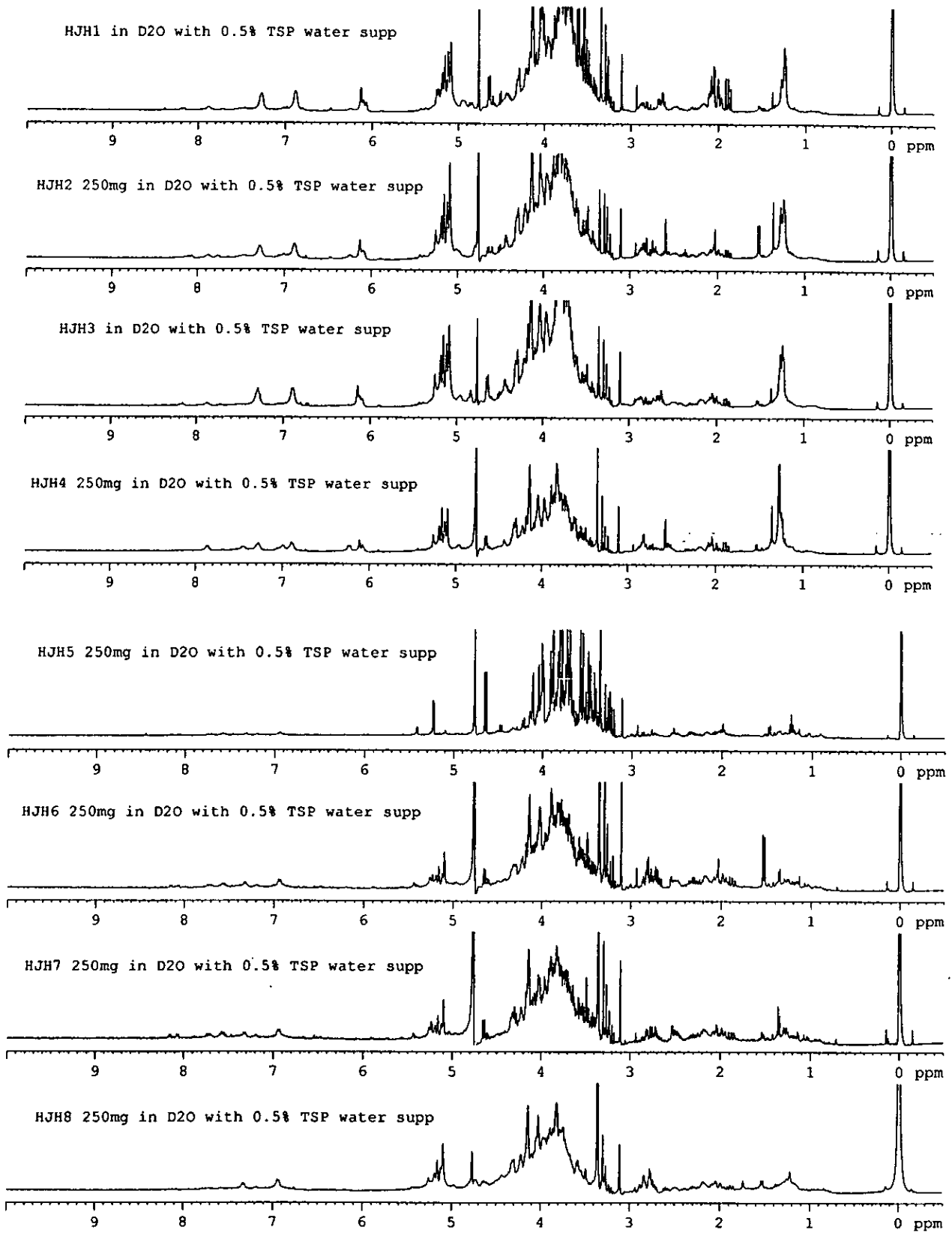


圖 4 橘紅的 NMR 圖譜

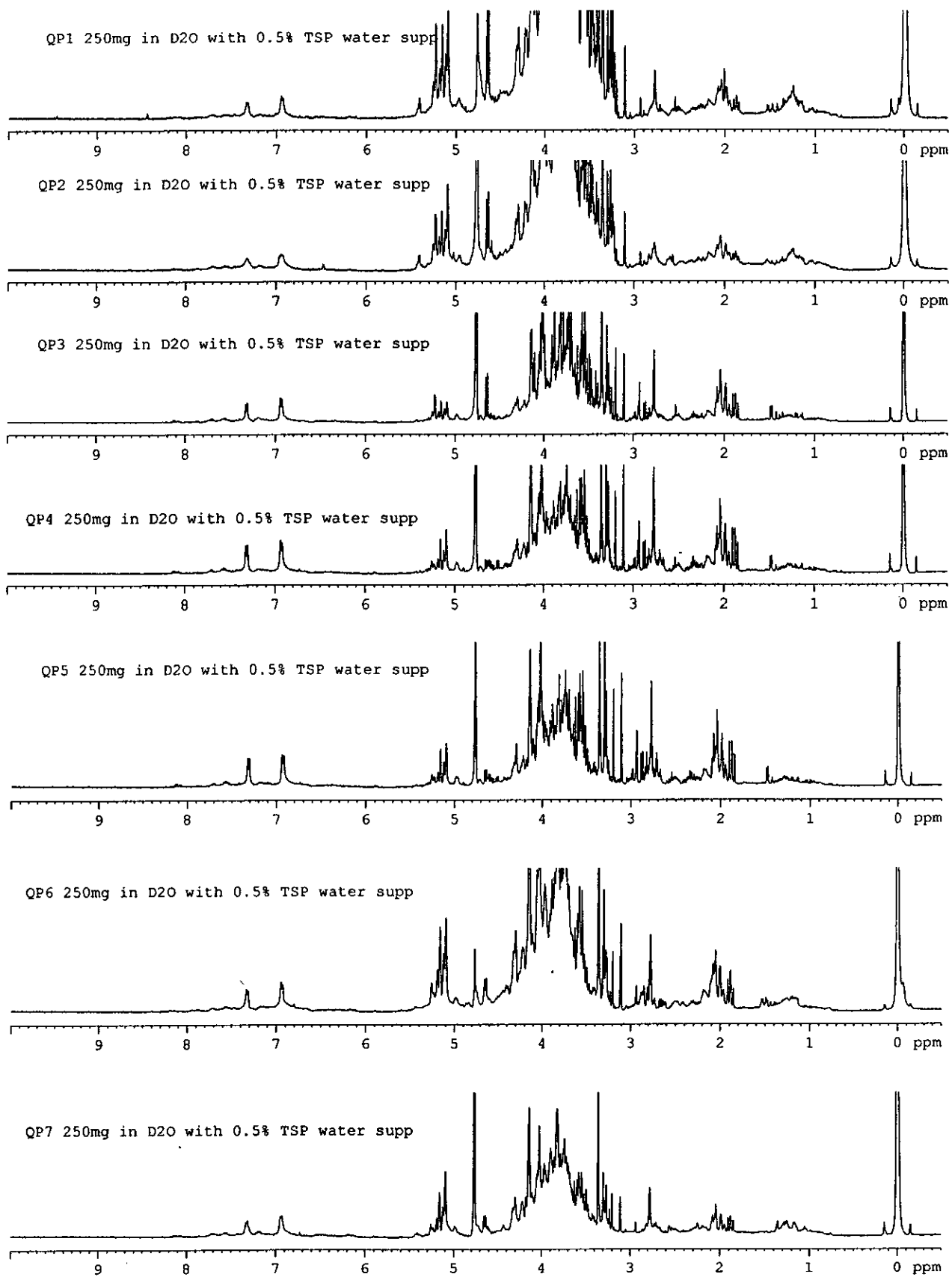


圖 5 青皮的 NMR 圖譜

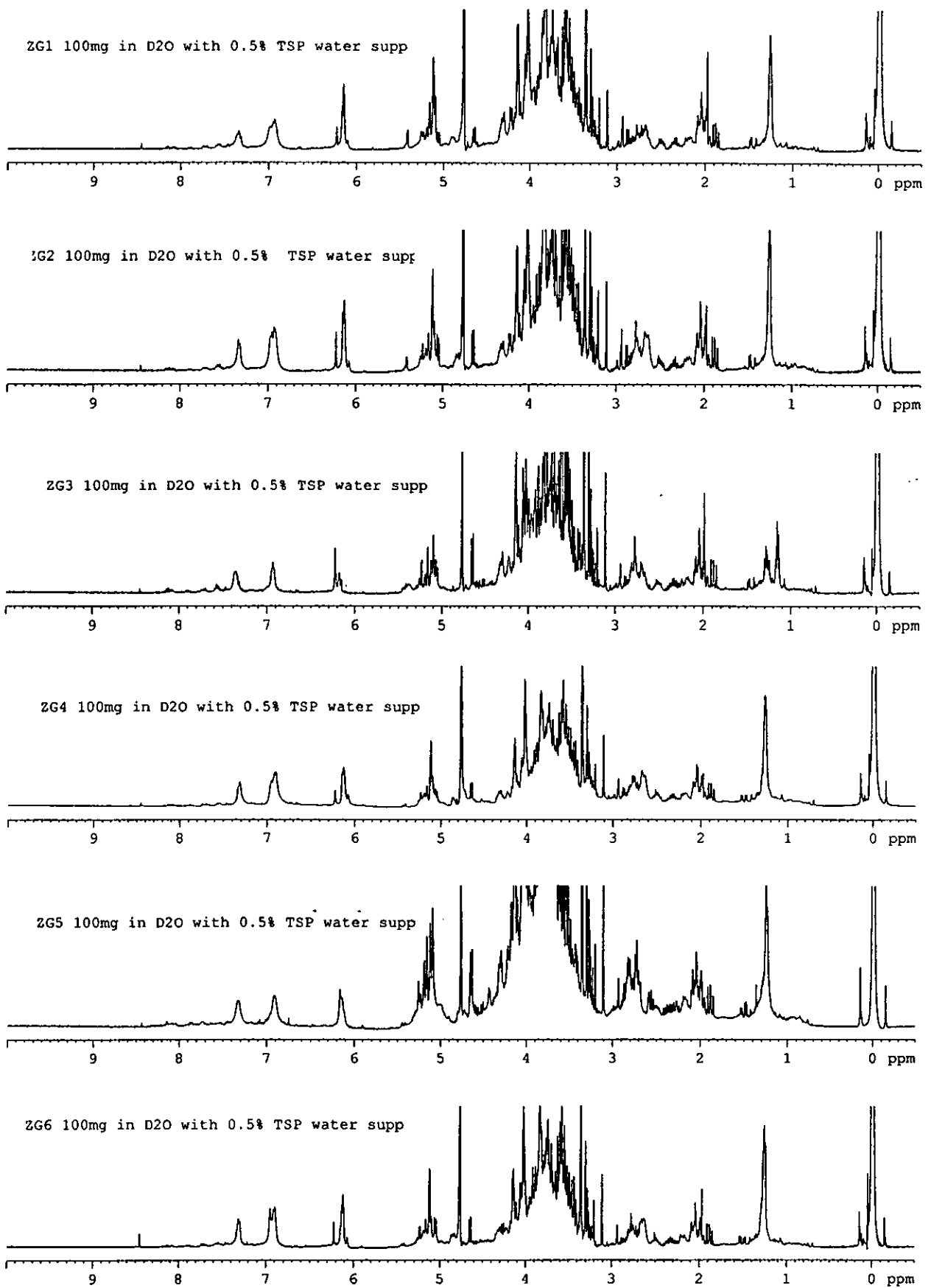


圖 6 枳殼的 NMR 圖譜

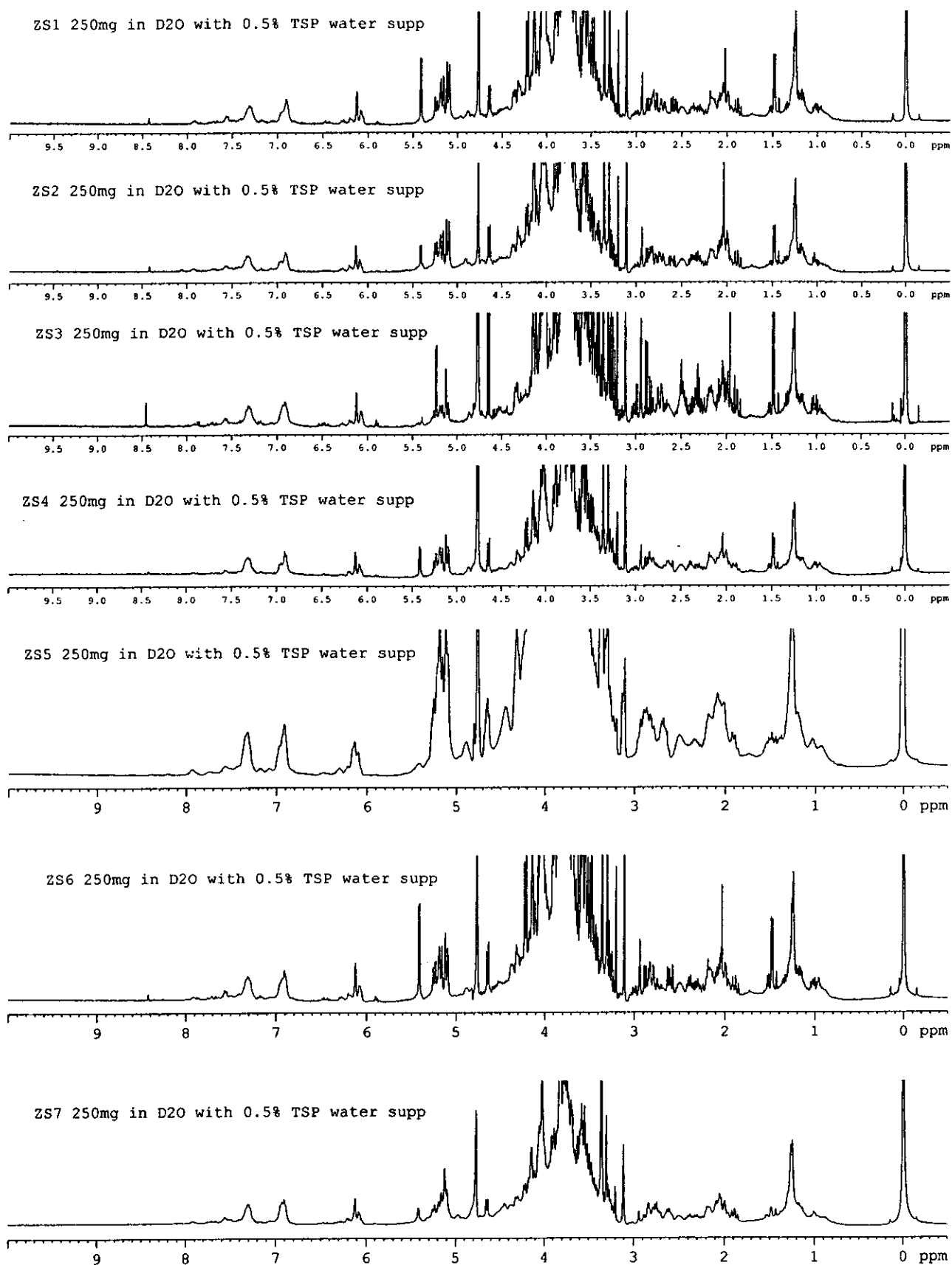


圖 7 枳實的 NMR 圖譜

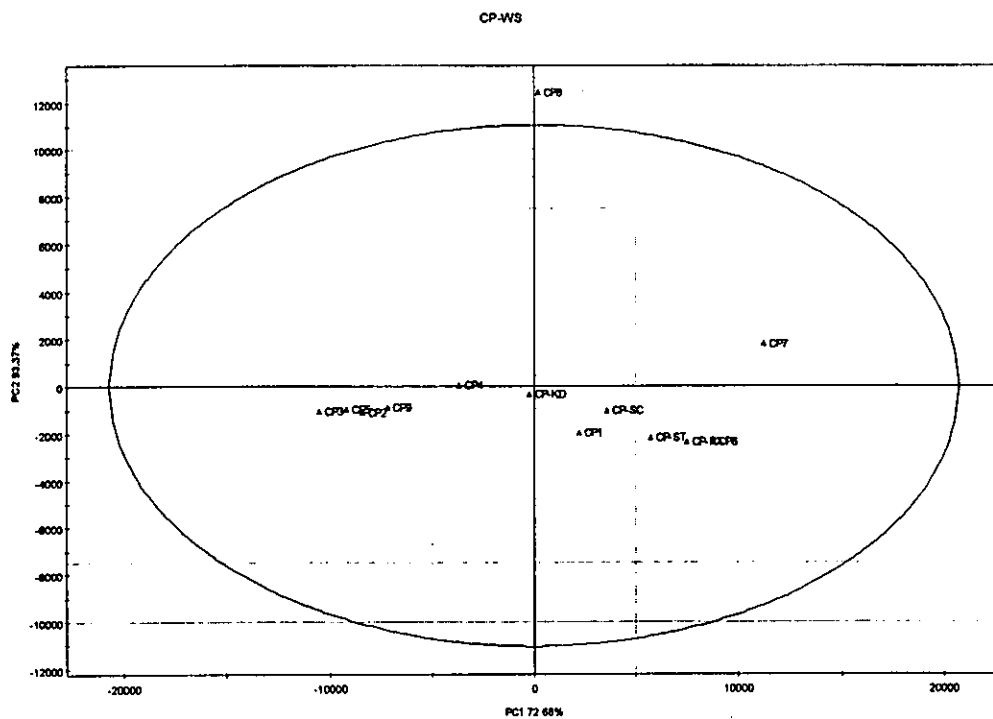


圖 8-1 陳皮的 score plot PC1 與 PC2

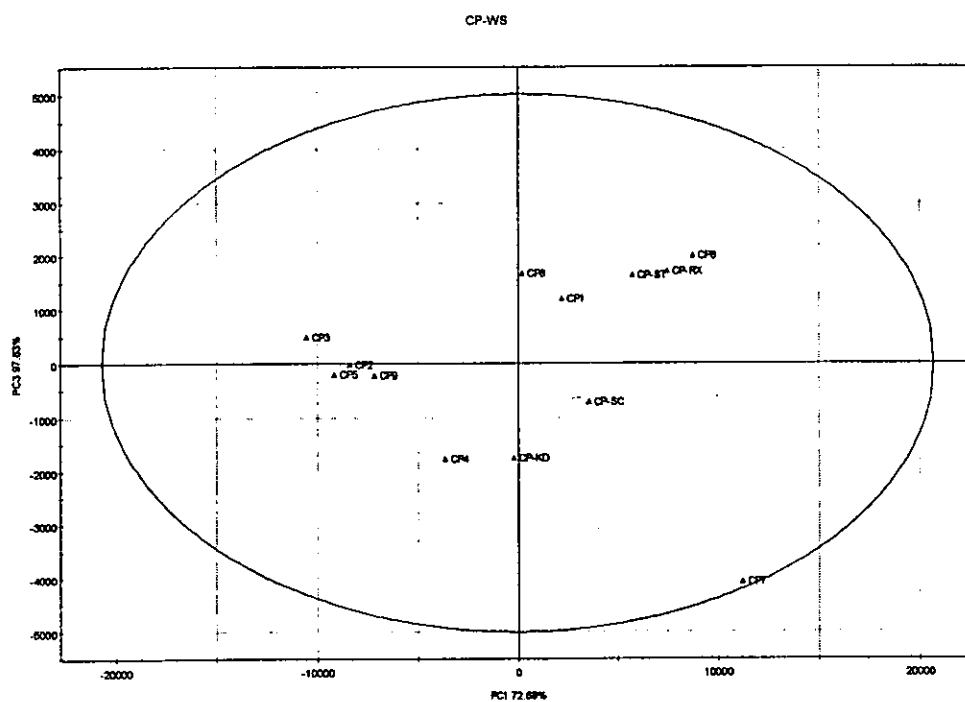


圖 8-2 陳皮的 score plot PC1 與 PC3

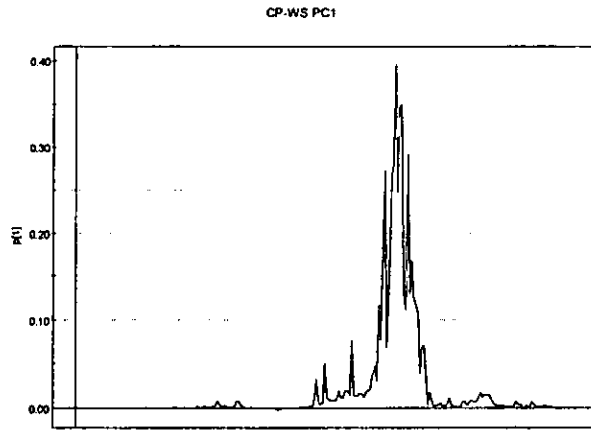


圖 9-1 陳皮的 loading plot PC1

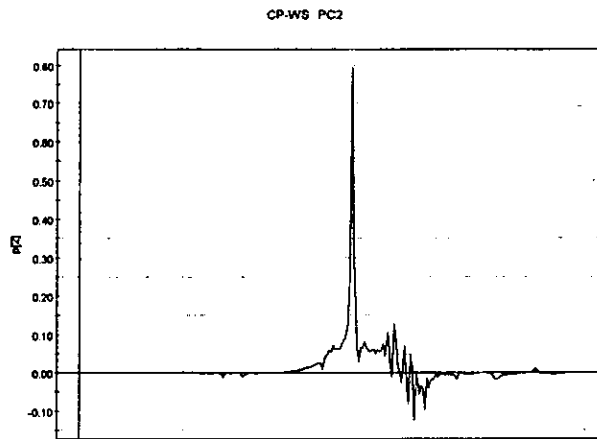


圖 9-2 陳皮的 loading plot PC2

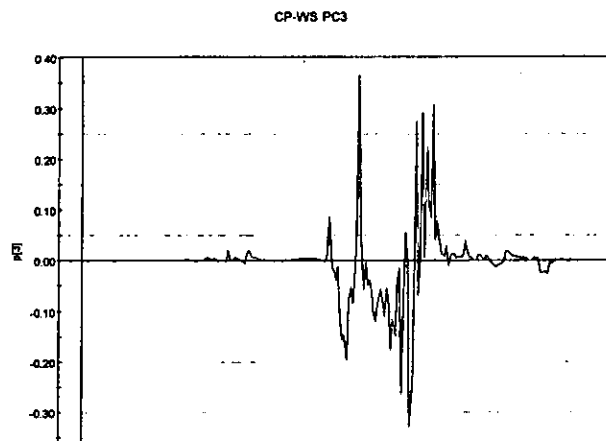


圖 9-3 陳皮的 loading plot PC3

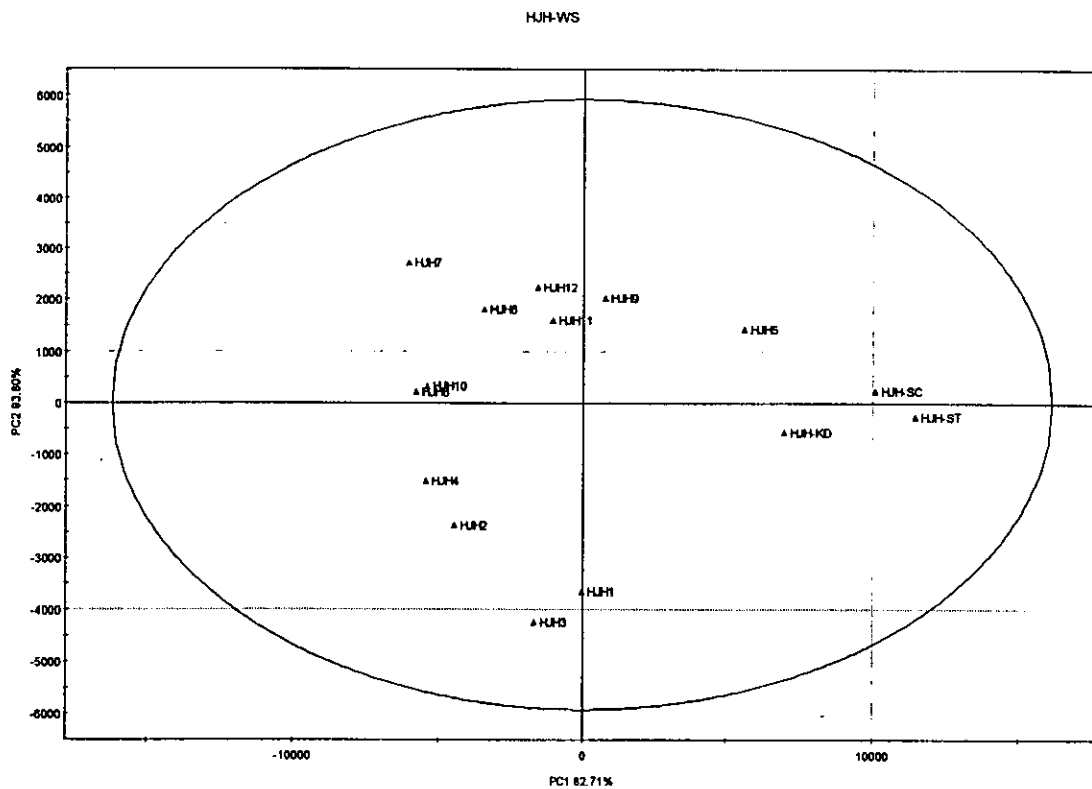


圖 10-1 橘紅的 score plot PC1 與 PC2

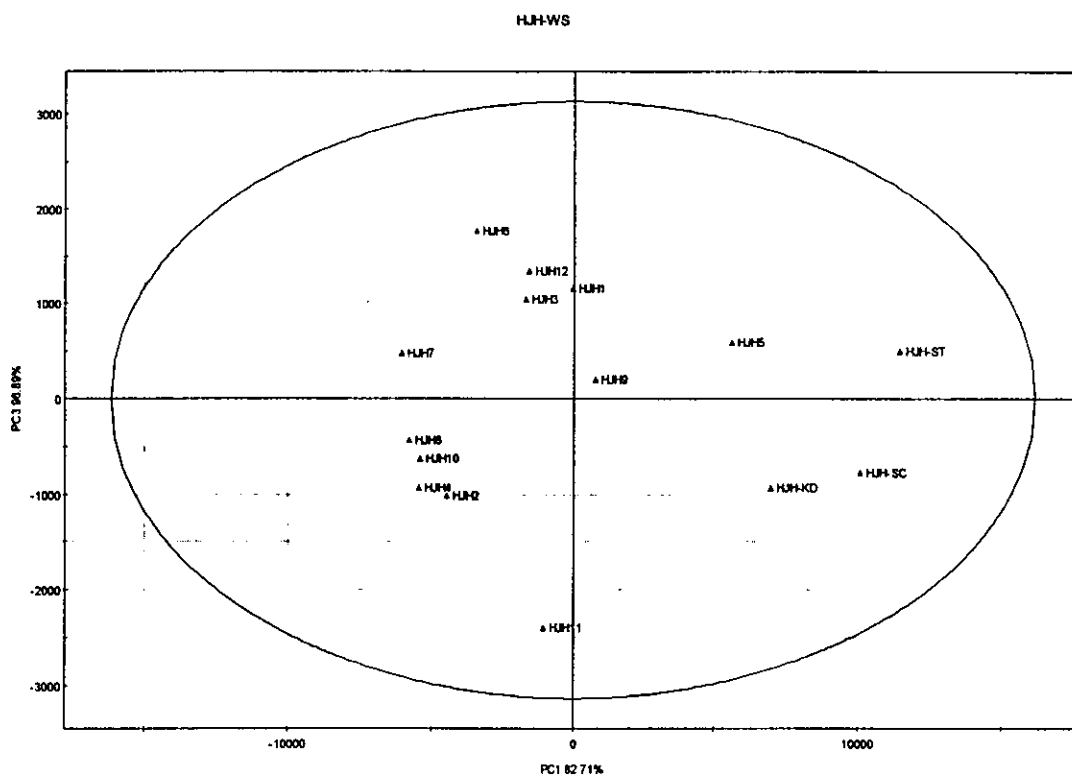


圖 10-2 橘紅的 score plot PC1 與 PC3

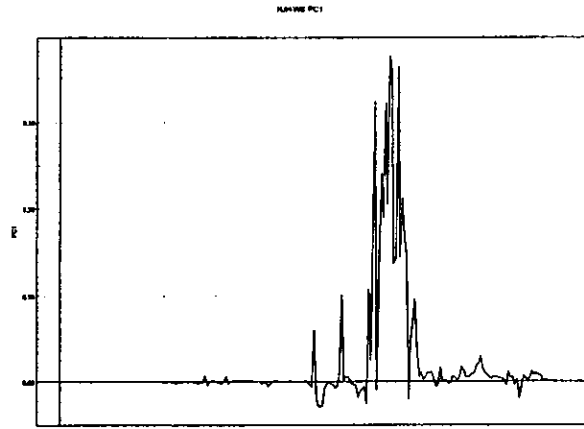


圖 11-1 橘紅的 loading plot PC1

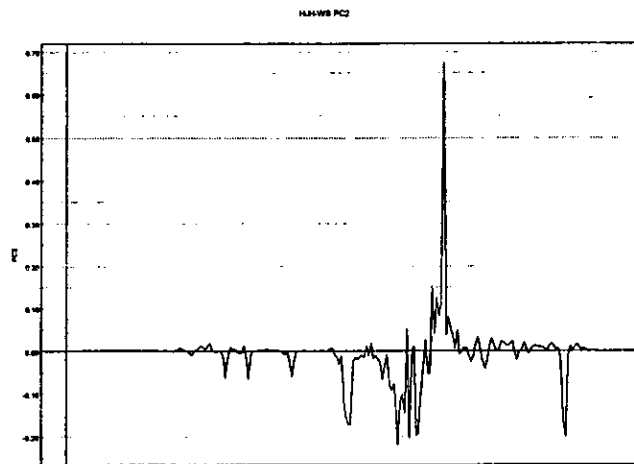


圖 11-2 橘紅的 loading plot PC2

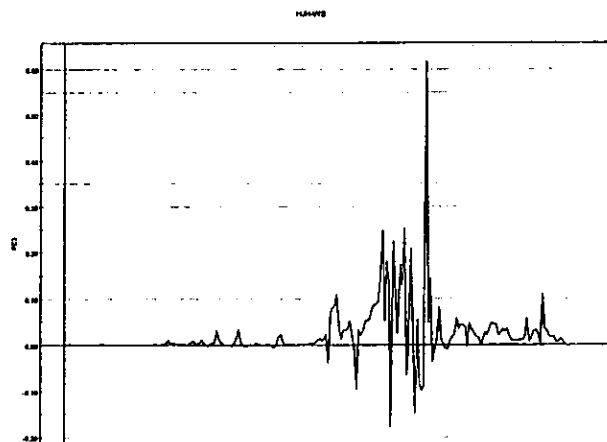


圖 11-3 橘紅的 loading plot PC3

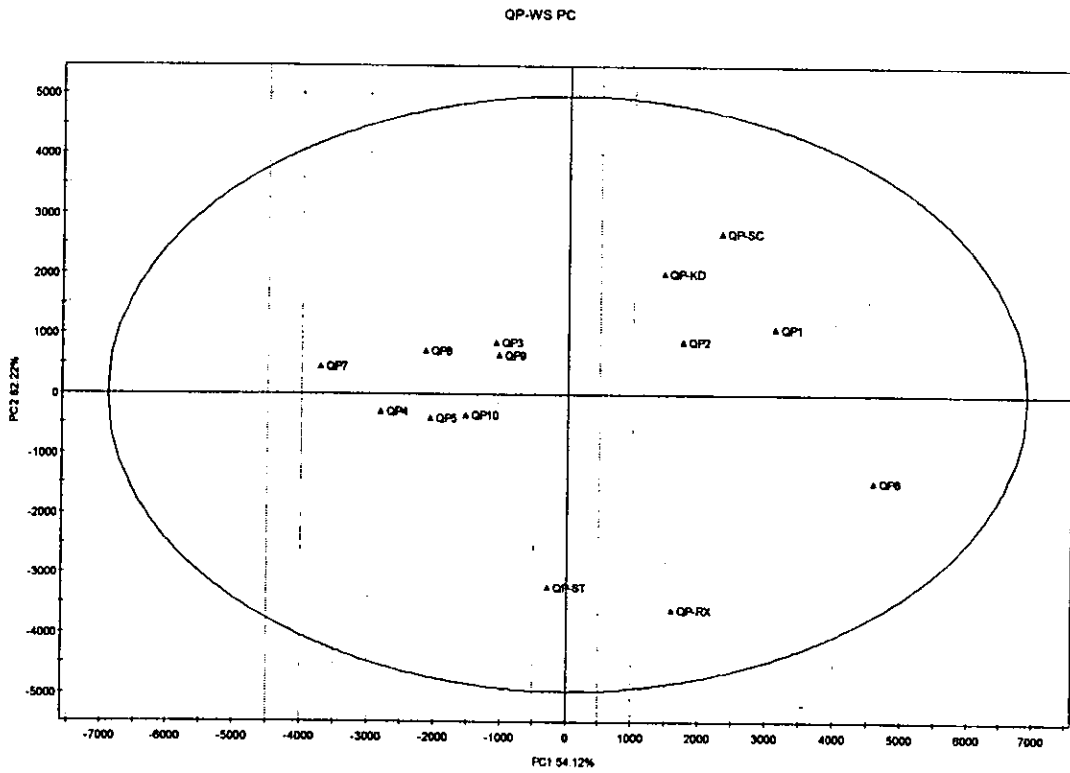


圖 12-1 青皮的 score plot PC1 與 PC2

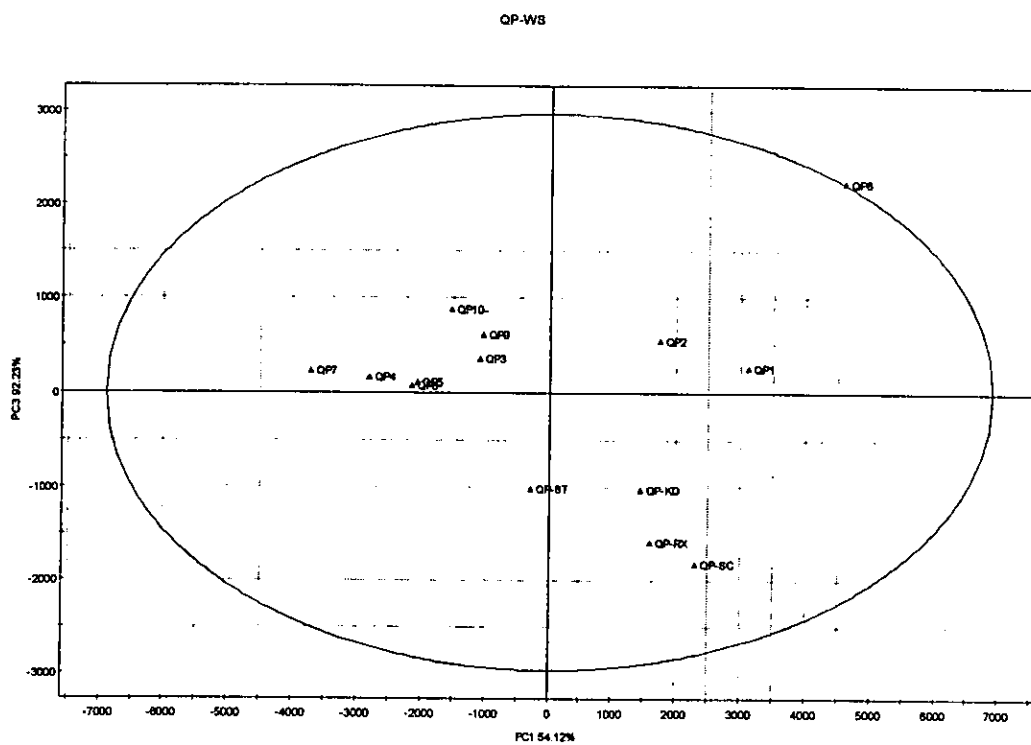


圖 12-2 青皮的 score plot PC1 與 PC3

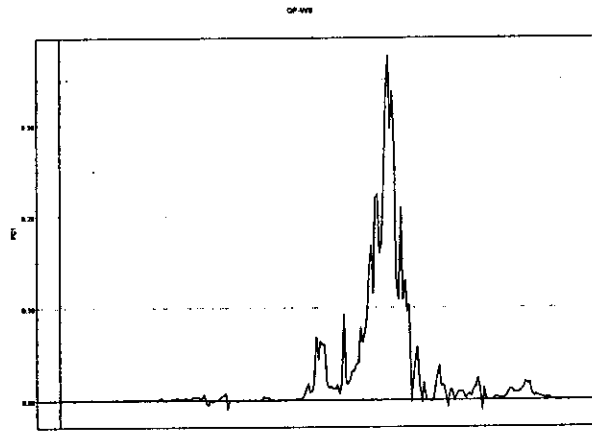


圖 13-1 青皮的 loading plot PC1

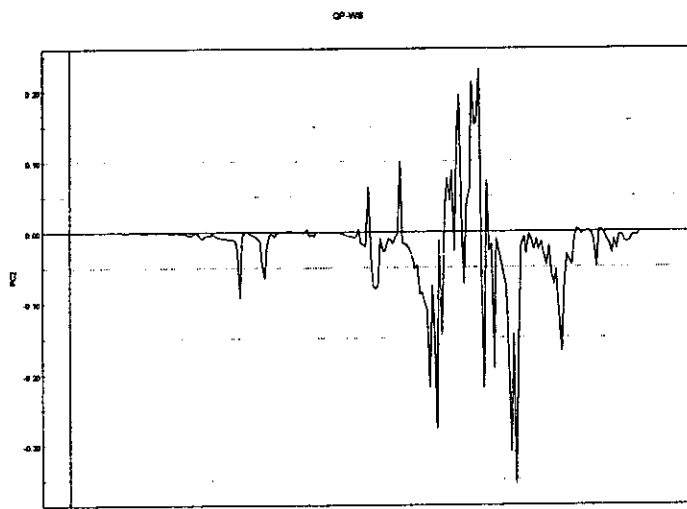


圖 13-2 青皮的 loading plot PC2

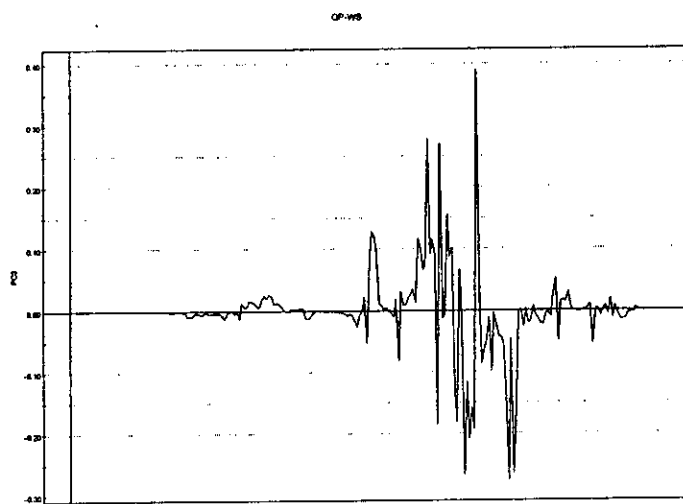


圖 13-3 青皮的 loading plot PC3

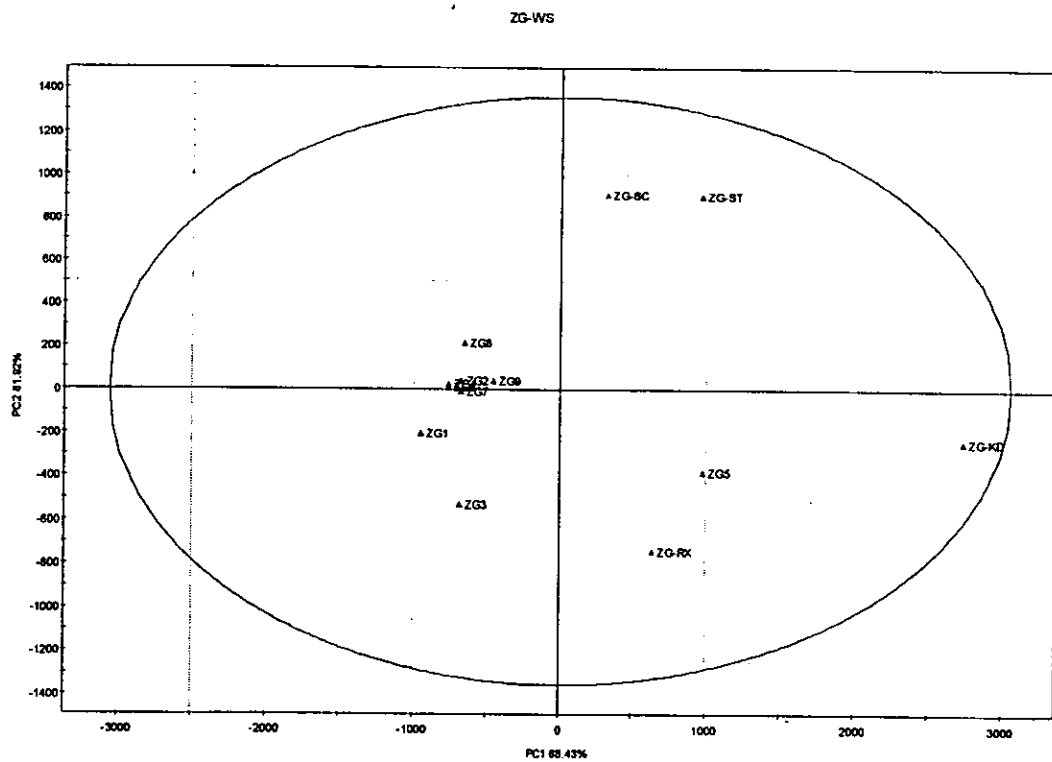


圖 14-1 枳殼的 score plot PC1 PC2

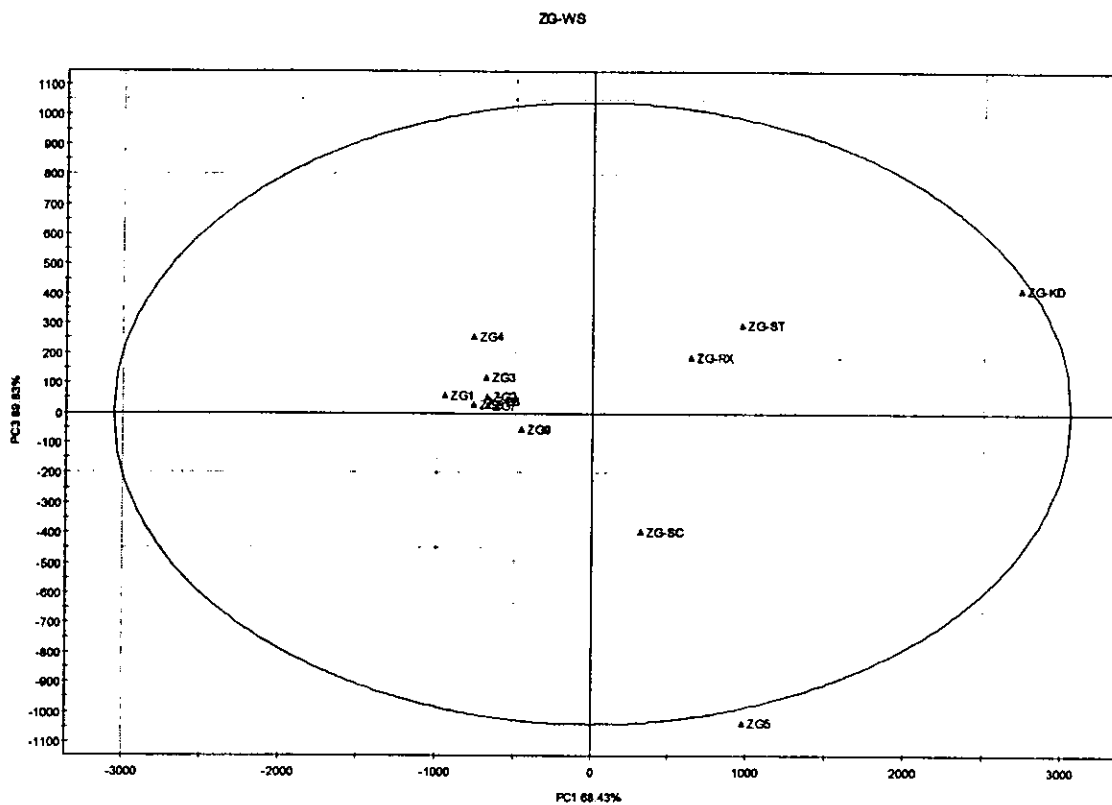


圖 14-2 枳殼的 score plot PC1 PC3

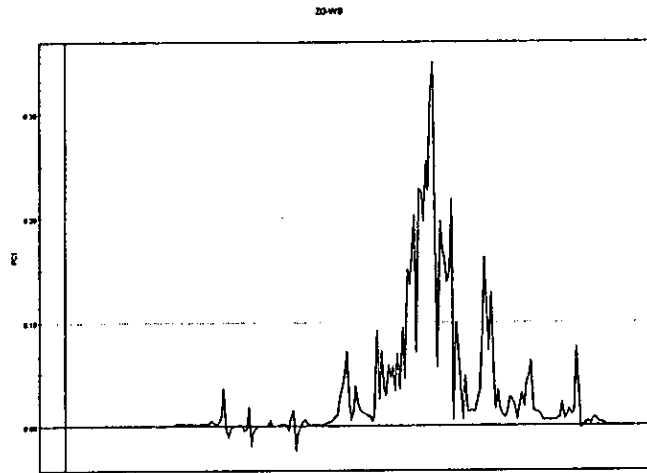


圖 15-1 枳殼的 loading plot PC1

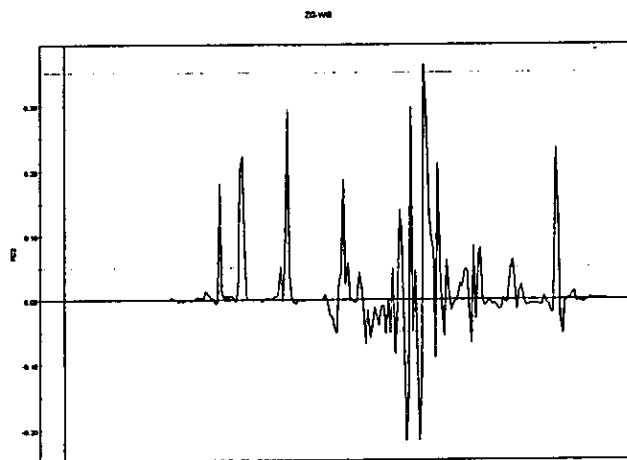


圖 15-2 枳殼的 loading plot PC2

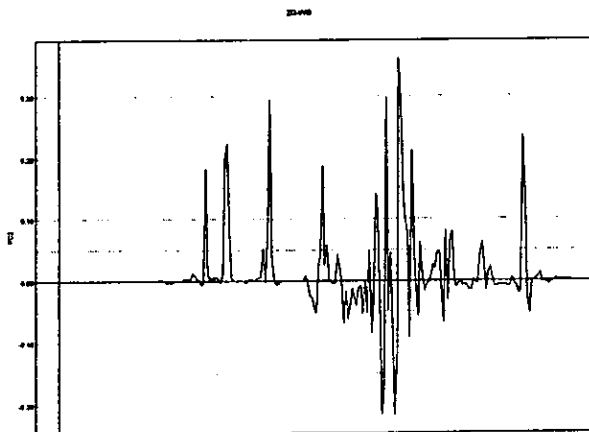


圖 15-3 枳殼的 loading plot PC3

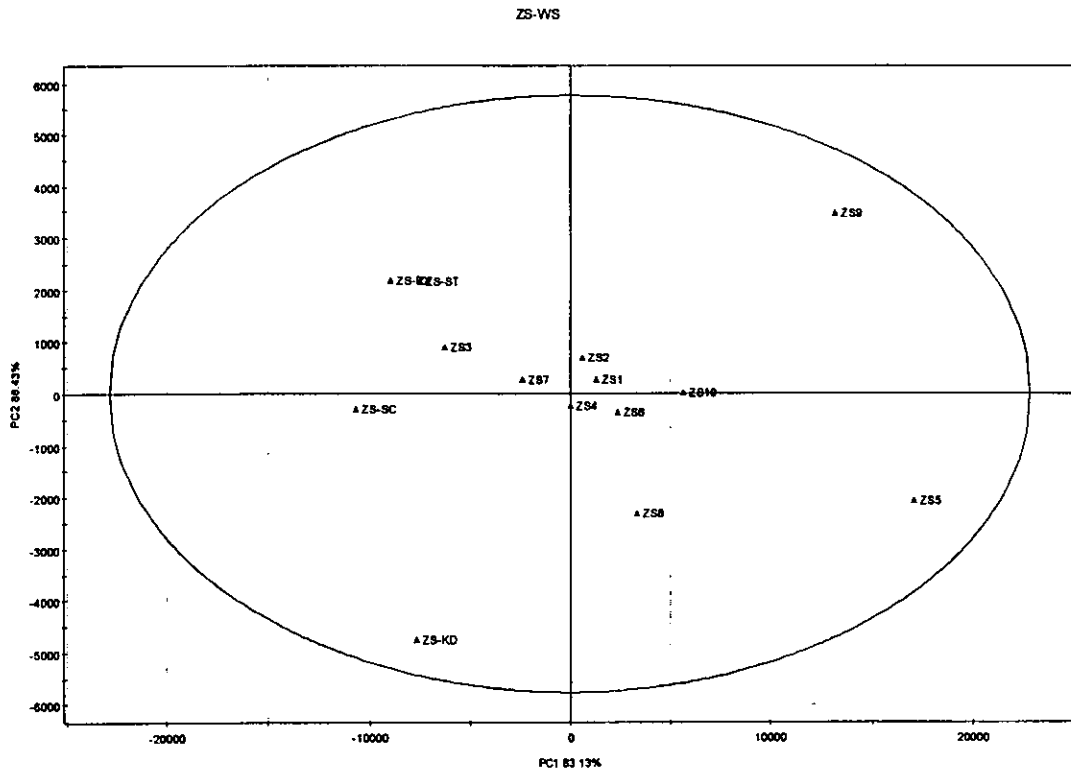


圖 16-1 枳實的 score plot PC1 PC2

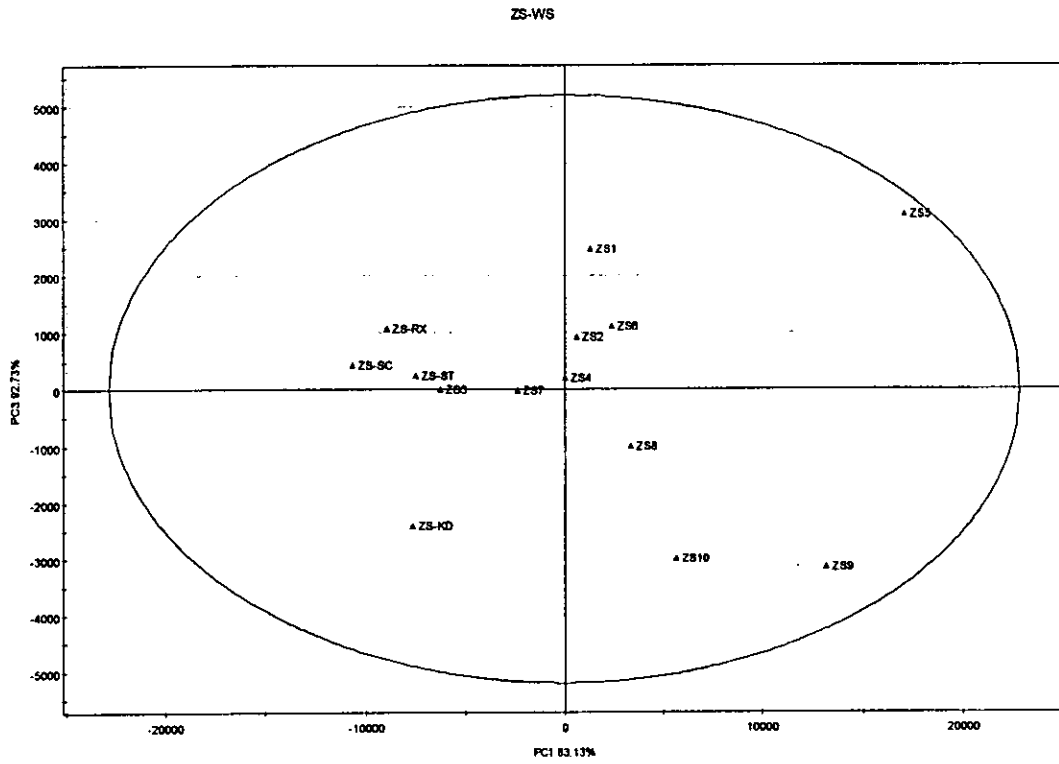


圖 16-2 枳實的 score plot PC1 PC3

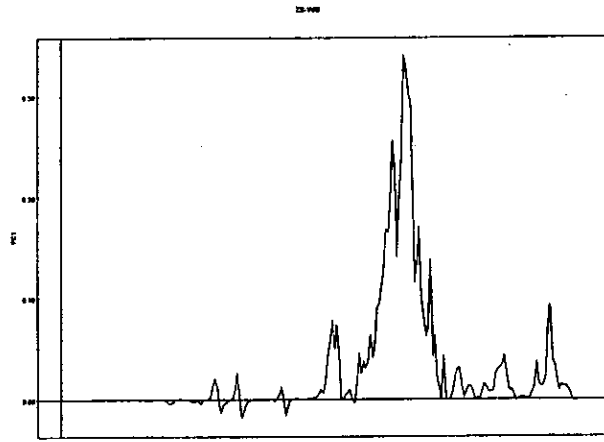


圖 17-1 枳實的 loading plot PC1

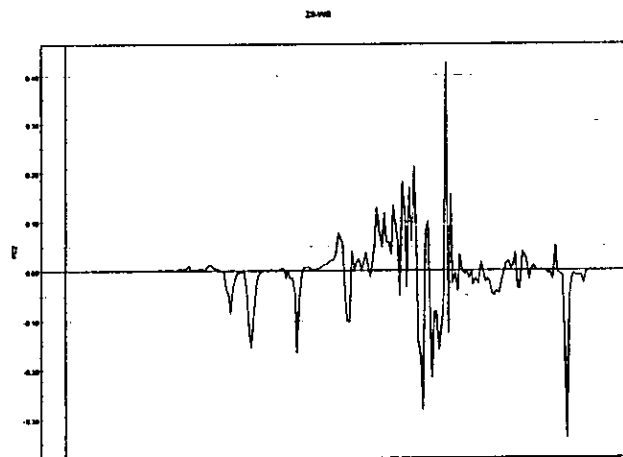


圖 17-2 枳實的 loading plot PC2

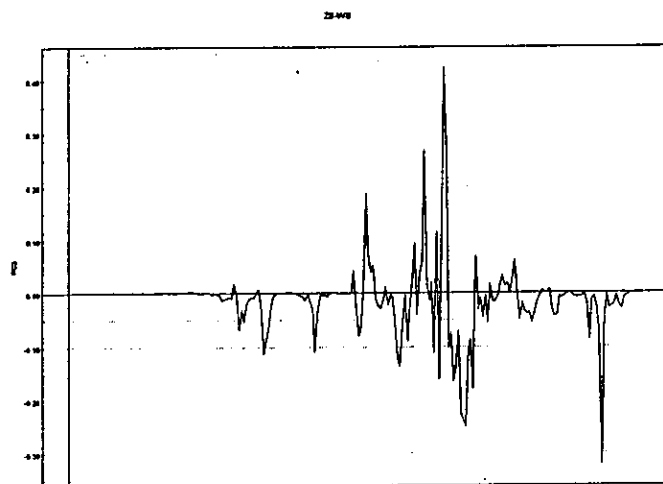


圖 17-3 枳實的 loading plot PC3

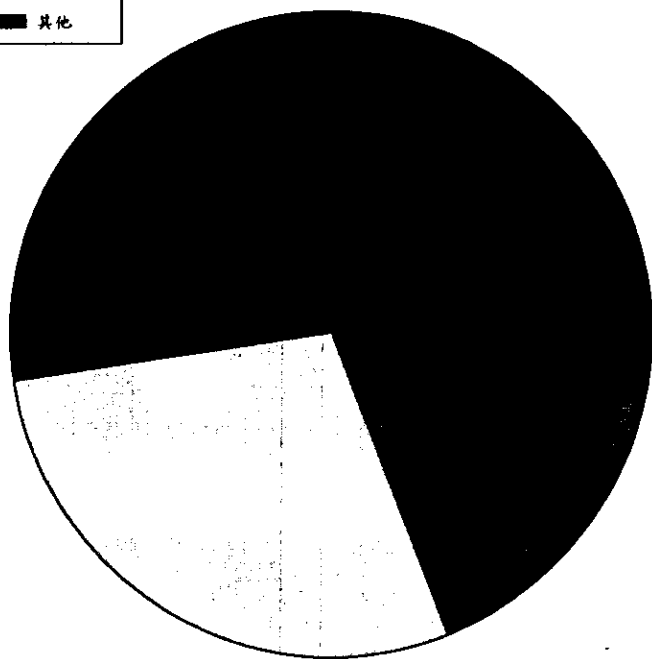
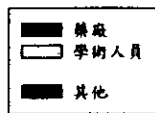


圖 18 參與研討會人員

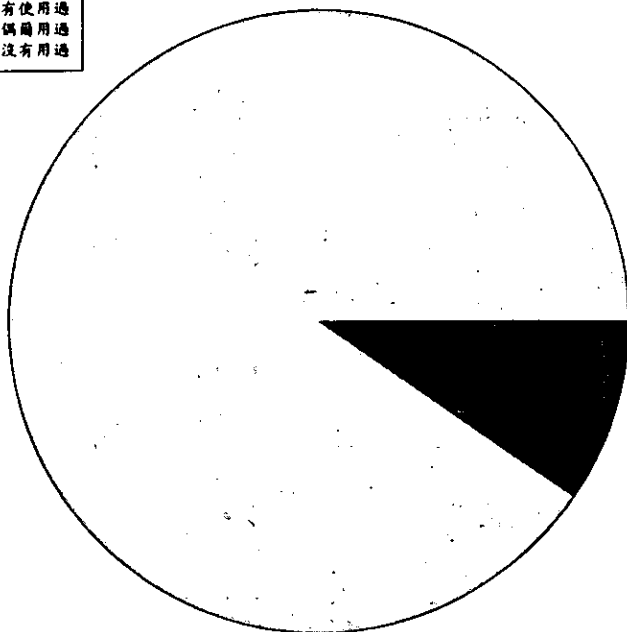
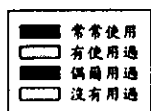


圖 19 HPLC 使用情形

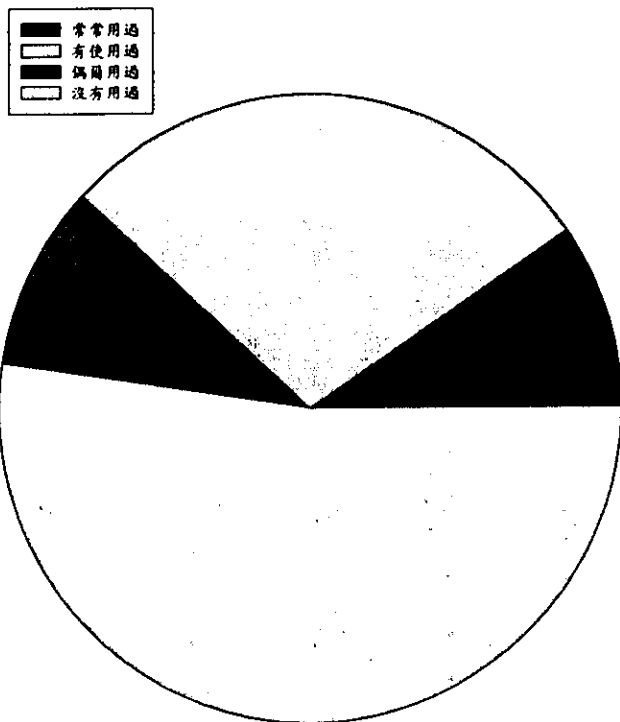


圖 20 NMR 使用情形

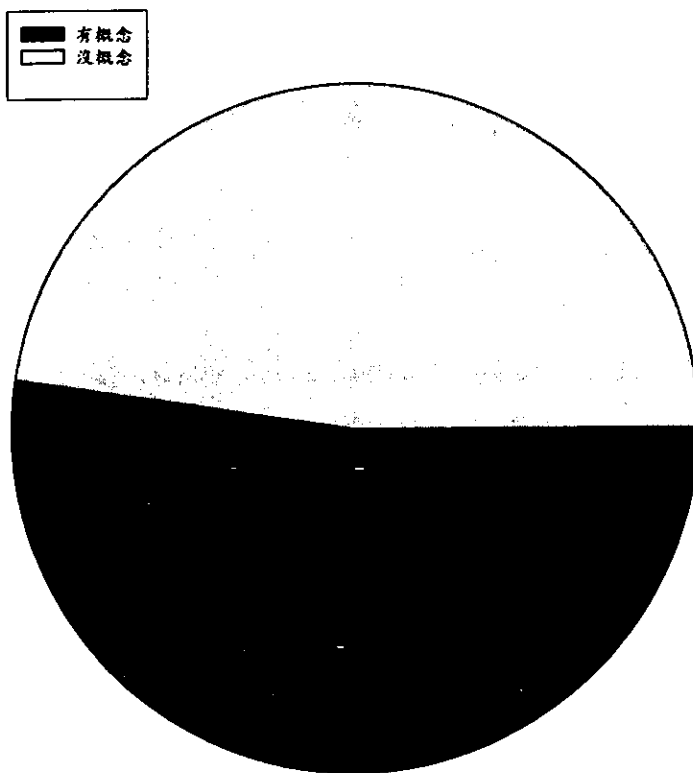


圖 21 對於 HPLC 所作辨識的模糊分群法(Fuzzy clustering)中的 Possibility

C-Mean(PCM)的概念

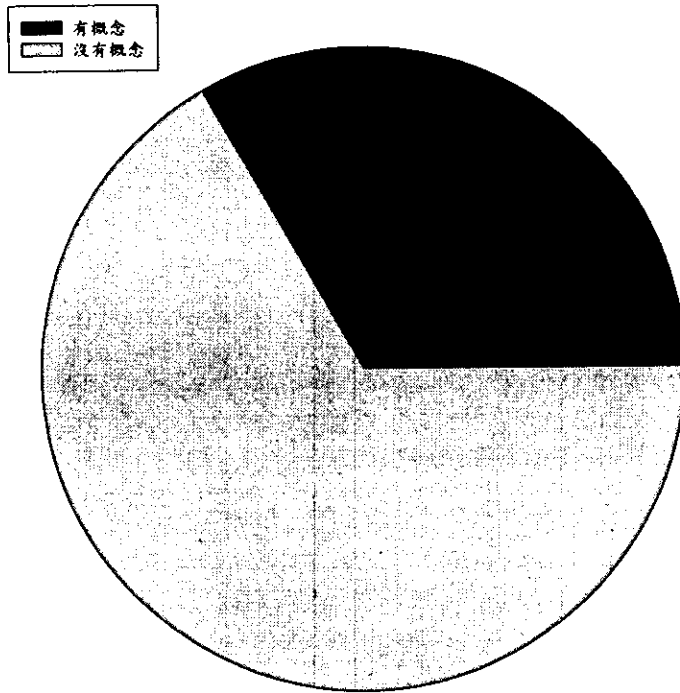


圖 22 對於 NMR 所作統計方法，多變數分析(Multiple variance analysis)中的 Principal component analysis(PCA)的統計方法的概念

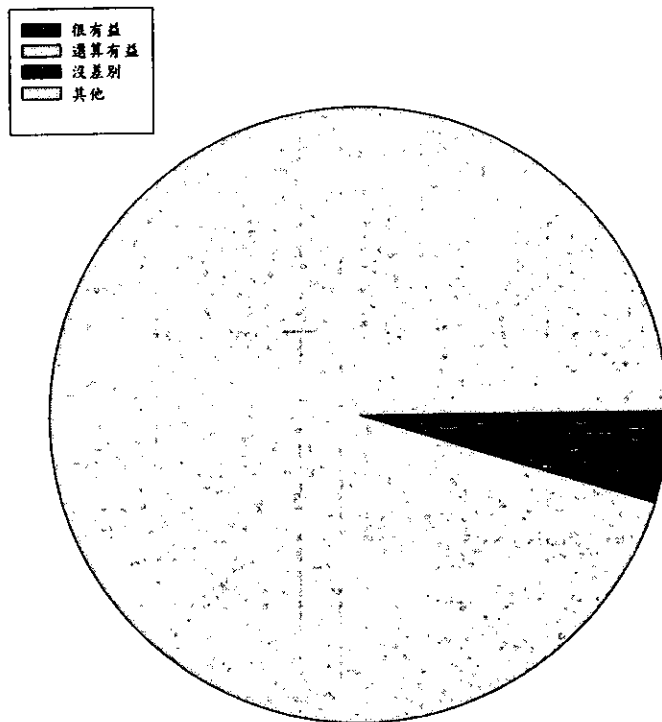


圖 23 覺得 HPLC 配合上 PCM 的辨識方法，對於中藥的指紋圖譜辨識是否有益

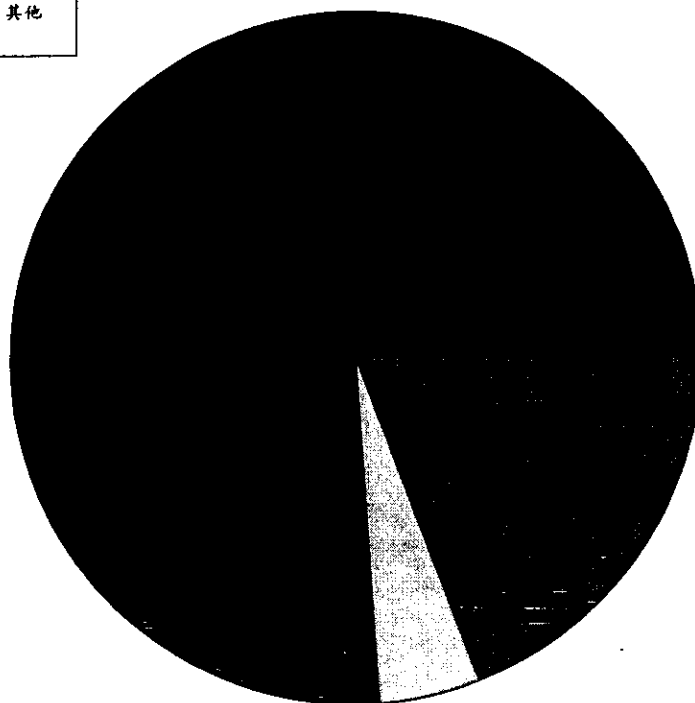
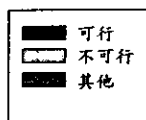


圖 24 對於 HPLC 指紋辨識圖譜在該廠/該單位，應用於品管之可行性

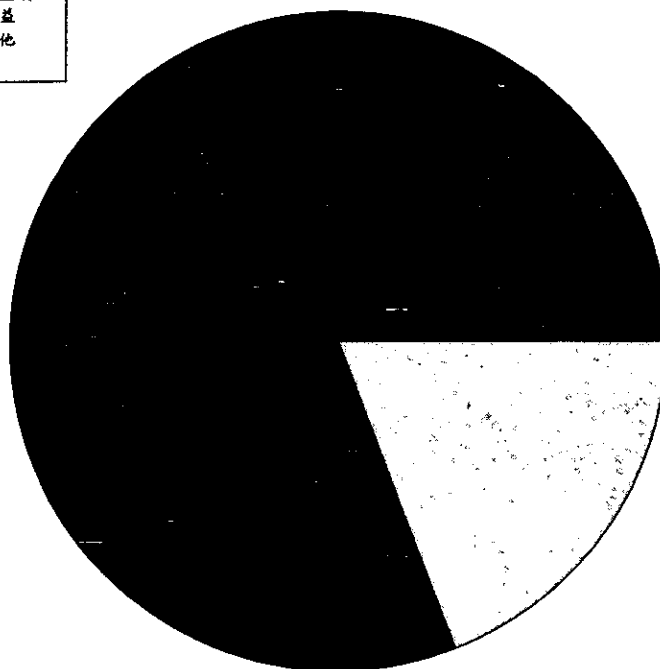
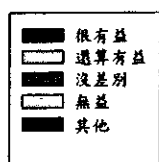


圖 25 覺得 NMR 配合上 PCA 的統計方法，對於中藥的指紋圖譜辨識是否有益

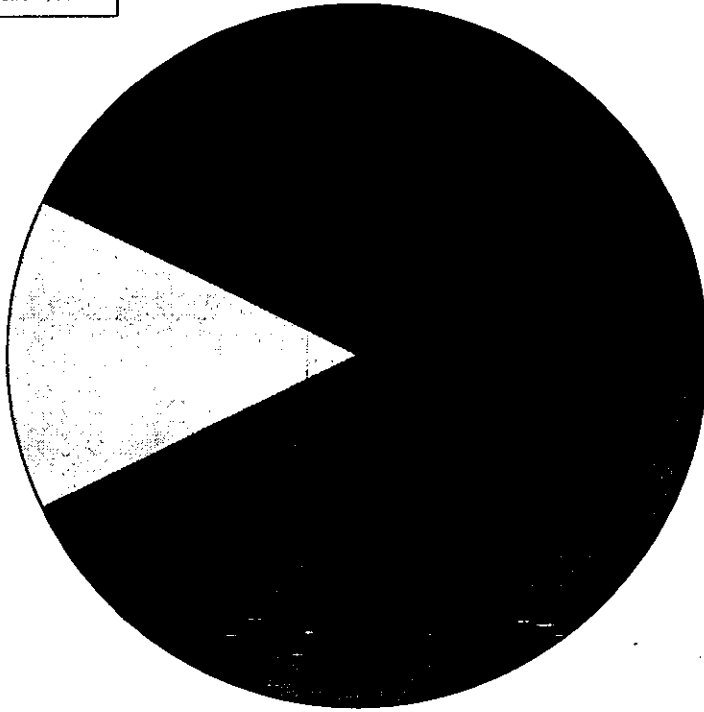


圖 26 對於 NMR 指紋辨識圖譜在該廠/該單位，應用於品管之可行性



圖 27 覺得當天的演講對於未來研究/中藥辨識是否有益

柒、表

表 1 青皮特徵峰之滯留時間及面積表

波峰編號	1	2	3	4	5	6
滯留時間	124	143	367	547	801	843
面積	4227	1474	2208	438	957	749

表 2 青皮特徵抽取結果之特徵向量表

波峰數	滯留時間比值 (RRT)					面積比值 (RA)				
	6	1.15	2.95	4.41	6.45	6.79	0.35	0.52	0.10	0.22

表 3-1 青皮之偽品偵測結果

編號	歸署可能性	編號	歸屬可能性
1(偽品)	0.0356	6	0.9161
2(偽品)	0.1102	7	0.9245
3	0.9248	8	0.9213
4	0.9121	9	0.9245
5	0.9251	10	0.9160

表 3-2 有偽品及無偽品情況下之青皮群聚中心對照表

	滯留時間比值				
有偽品群聚之中心	1.17	2.93	4.54	6.63	6.98
無偽品群聚之中心	1.17	2.93	4.54	6.63	6.98

表 4-1 枳殼中藥材之偽品偵測結果

編號	歸屬可能性	編號	歸屬可能性
1(偽品)	0.3997	6	0.9938
2(偽品)	0.3738	7	0.9952
3	0.9611	8	0.9969
4	0.9969	9	0.9978
5	0.9961	10	0.9982

表 4-2 有偽品及無偽品情況下枳殼群聚中心對照表

	保留時間比值				
	有偽品之群聚中心	1.14	2.06	3.28	4.51
無偽品之群聚中心	1.14	2.62	3.26	4.51	0

表 5-1 枳殼中藥材之偽品偵測結果

編號	歸屬可能性	編號	歸屬可能性
1(偽品)	0.3464	6	0.9349
2(偽品)	0.1028	7	0.9940
3	0.9502	8	0.9940
4	0.9881	9	0.9964
5	0.9937	10	0.9890

表 5-2 有偽品及無偽品情況下枳殼群聚中心對照表

	保留時間比值				
	有偽品之群聚中心	1.15	1.25	2.34	2.69
無偽品之群聚中心	1.15	1.25	2.34	2.68	4.54

表 6-1 陳皮中藥材之偽品偵測結果

編號	歸屬可能性	編號	歸屬可能性
1(偽品)	0.1352	6	0.9698
2(偽品)	0.0992	7	0.9991
3	0.9763	8	0.9970
4	0.9122	9	0.9761
5	0.9757	10	0.9757

表 6-2 有偽品及無偽品情況下陳皮群聚中心對照表

	保留時間比值				
	有偽品之群聚中心	1.16	2.37	2.92	4.51
無偽品之群聚中心	1.16	2.37	2.91	4.50	6.57

表 7-1 橘紅中藥材之偽品偵測結果

編號	歸屬可能性	編號	歸屬可能性
1(偽品)	0.3380	6	0.9986
2(偽品)	0.1965	7	0.9903
3	0.9962	8	0.9979
4	0.9987	9	0.9616
5	0.9940	10	0.9918

表 7-2 有偽品及無偽品情況下橘紅群聚中心對照表

	保留時間比值				
	有偽品之群聚中心	1.18	1.41	2.92	4.37
無偽品之群聚中心	1.18	1.39	2.91	4.36	0

附件

「建立中藥化學指紋圖譜影像辨識之技術平臺」說明會之問卷

本計畫為中國醫藥大學藥用化妝品學系溫國慶教授主持，接受行政院中醫藥委員會委託之計畫。

請您回答下列有關中藥指紋圖譜的問題。謝謝您的合作。

請就下列問題勾選適宜之情形

1. 您的身分是 (1) 學生 (2) 醫療人員 (3) 藥廠人員 (4) 學術人員 (5) 其他
2. 是否使用過 HPLC (1) 常常使用 (2) 有使用過 (3) 偶爾用過 (4) 沒有用過 (5) 不清楚是否用過
3. 是否使用過 NMR (1) 常常使用 (2) 有使用過 (3) 偶爾用過 (4) 沒有用過 (5) 不清楚是否用過
4. 對於 HPLC 所作辨識的模糊分群法(Fuzzy clustering)中的 Possibility C-Mean(PCM)是否具有概念 (1) 有 (2) 沒有
5. 對於 NMR 所作統計方法，多變數分析(Multiple variance analysis)中的 Principal component analysis(PCA)的統計方法否具有概念 (1) 有 (2) 沒有
6. 覺得 HPLC 配合上 PCM 的辨識方法，對於中藥的指紋圖譜辨識是否有益 (1) 很有益 (2) 還算有益 (3) 沒差別 (4) 無益 (5) 非常無益 (6) 其他_____
7. 對於 HPLC 指紋辨識圖譜在貴廠/貴單位，應用於品管之可行性？ (1) 可行 (2) 不可行 (3) 其他_____
8. 覺得 NMR 配合上 PCA 的統計方法，對於中藥的指紋圖譜辨識是否有益 (1) 很有益 (2) 還算有益 (3) 沒差別 (4) 無益 (5) 非常無益 (6) 其他_____
9. 對於 NMR 指紋辨識圖譜在貴廠/貴單位，應用於品管之可行性？ (1) 可行 (2) 不可行 (3) 其他_____
10. 覺得今天的演講對於未來研究/中藥辨識是否有益 (1) 很有益 (2) 還算有益 (3) 沒差別 (4) 無益 (5) 非常無益
11. 對於今天的演講有任何指教或意見，請書寫於下方欄位中，謝謝您的指教。

感謝您的填寫，若有任何意見及指教，請與中國醫藥大學藥用化妝品學系溫國慶教授連絡(04) 2205-3366 ext 5208，謝謝。