

第三章 實驗材料及方法

第一節 實驗材料

1. 藥材

本實驗所使用之中藥材係購自台中欣隆藥材行，經本所陳忠川所長鑑定中藥材之基原採用如下：

麻黃 *Ephedra sinica* STAPF (Ephedraceae)

杏仁 *Prunus armeniaca* L. var. *ansu* MAXIM. (Rosaceae)

甘草 *Glycyrrhiza sp* (Leguminosae)

石膏 $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

2. 藥品及試劑

麻黃鹼(Ephedrine)	European Pharmacopia Reference Standard
苦杏仁 \square (Amygdalin)	Fluka(25 CH-9470 Buchs Switzerland)
甘草酸(Glycyrrhizic acid)	Fluka(25 CH-9470 Buchs Switzerland)
對羥基苯甲酸(<i>p</i> -hydroxy benzoic acid)	Sigma(St.Louis, MO, U.S.A.)
茶鹼(Theophylline)	Sigma(St.Louis, MO, U.S.A.)
羥苯丙酯(Propylparaben)	Sigma(St.Louis, MO, U.S.A.)
肝素鈉(Heparin Sodium)	Novo Industrial Co.5000 I.U./ml
磷酸(Phosphoric acid)	Merck Co.
甲醇(Methanol)	Merck Co.

乙腈(Acetonitrile)	Merck Co.
二氯甲烷(Dichloromethane)	Merck Co.
氫氧化鈉(Sodium hydroxide)	德國 R.D.H. Co.
藥用酒精(Ethanol)	臺灣煙酒公賣局
生理食鹽水	信東化學工業公司
氮氣	吉源氮氣

* 使用於高效液相層析儀之試劑均為 HPLC 級

3.儀器及材料

A.高效液相層析儀之裝備

幫浦(Pump) :	Jasco Model PU-980
偵測器(Detector) :	Jasco Model UV-970 Intelligent UV/VIS
積分儀(Integrator) :	Scientific Information Service Corporation Integrator
自動取樣機(Auto Sampler) :	Jasco Model AS-950
印表機(Printer) :	Hewlett Packard Deskjet 695C
層析管(Column) :	Inertsil 5 ODS-2(4.6×150mm) VERCOPAK
層析管(Column) :	Inertsil 7 ODS-3(4.6×150mm) VERCOPAK
保護管柱(Pre-column) :	VERCOPAK 5 ODS-2
保護管柱(Pre-column) :	VERCOPAK 7 ODS

B.實驗室裝備

電子天平 :	Sartorius Type 1801
減壓抽氣機 :	Eyela, Aspirator A-2S, Tokyo, Rikak Co.
微量移液管(Micropipette) :	Socorex Transferpette :
	1 - 10 μ l
	20 - 200 μ l

100 - 1000 μ l

- 試管振盪器： Maxi Mix II Thermolyne Type 37600 Mixer
- 高速離心機： Hettich Zentrifugen D-7200 Tuttlingen,
Germany(5000 rpm)
- 酸鹼測定儀(pH meter)： Suntex Microprocessor pH meter Model-2200
- 純水製造裝置： Operating and Maintenance manual For
RiOsTM and ElixTM Water purification
system, Millipore Co. Operating and
Maintenance manual Milli-Q[®], Millipore
Co.
- 超音波振盪器： BRANSON 5510, BRANSON ULTRASONIC
Co. , USA
- 吹氣濃縮裝置： Organomation Associates INC. Model
No.112.
- 過濾膜： Millipore Type HV, 0.45 μ m, Millipore Co.

C.動物實驗所用器材

- 胃管(內徑 1.5 mm)： 季勛儀器公司
- 針筒過濾器 0.22 μ m： PRO-XTM(Lida)
- 注射針及針筒： Terumo Co.Tokyo, Japan
1 ml Syringe 25_G × 5/8" (0.5 × 16 mm)
2.5 ml Syringe 24_G × 1" (0.55 × 25 mm)
10 ml Syringe 22_G × 1 1/2" (0.70 × 38 mm)
- 靜脈置留針及針塞： Terumo Co.Tokyo, Japan
IV Catheter 22_G × 1"
Injection Plug, 0.2 ml
- 家兔固定器： 信德儀器公司
- 張口器、棉花、3M 膠帶、計時器

3.溶液製備

(1)麻黃鹼、苦杏仁□及甘草酸的標準溶(Ephedrine, Amygdalin and Glycyrrhizic acid stock standard solution)

精稱麻黃鹼、苦杏仁□及甘草酸標準品各 10.0 mg 分別置入一個 10 ml 的容量瓶中，添加甲醇至刻度，即得濃度為 1.0 mg/ml 的麻黃鹼、苦杏仁□及甘草酸的標準溶液。使用時再以甲醇稀釋成所需濃度之標準溶液。

(2)內部標準溶液(internal standard solution)

a.精稱對羥基苯甲酸(*p*-hydroxy benzoic acid) 5 mg 置於 100 ml 定量瓶中，先加入適量乙□(Acetonitrile)使之溶解，再加入乙□至刻度，可得濃度為 50 μg/ml 對羥基苯甲酸之儲備液；取 1.0 ml 之儲備液置於 10 ml 容量瓶，加入乙□至刻度並混合均勻，即得濃度為 5 μg/ml 的內部標準溶液。

b.精稱茶鹼(Theophylline) 10 mg 置於 100 ml 定量瓶中，先加入適量乙□(Acetonitrile)使之溶解，再加入乙□至刻度，可得濃度為 100 μg/ml 茶鹼之儲備液；取 1.0 ml 之儲備液置於 100 ml 容量瓶，加入乙□至刻度並混合均勻，即得濃度為 1 μg/ml 的內部標準溶液。

c.羥苯丙酯(Propylparaben) 5 mg 置於 100 ml 定量瓶中，先加入適量乙□(Acetonitrile)使之溶解，再加入乙□至刻度，可得濃度為

50 µg/ml 羥苯丙酯之儲備液；取 1.0 ml 之儲備液置於 100 ml 容量瓶，加入乙□至刻度並混合均勻，即得濃度為 0.5 µg/ml 的內部標準溶液。

(3) 肝素鈉溶液(Heparin sodium solution)

精取肝素鈉注射液(5,000 IU/ml)2.5 ml 加於 500 ml 生理食鹽水中，即得 25 I.U./ml 抗凝血肝素鈉溶液。

(4) 麻黃鹼、苦杏仁□及甘草酸靜脈注射液(Ephedrine, Amygdalin and Glycyrrhizic acid solution for intravenous injection)

精稱所須的麻黃鹼、苦杏仁□及甘草酸先加適量甲醇後，再加入注射用水混合，滴加適量 1N NaOH 溶液使之溶解，再經 0.22 µm 過濾薄膜過濾除菌即得。

(5) 麻杏甘石湯口服溶液(Ma-Shing-Gan-Shyr-Tang oral solution)

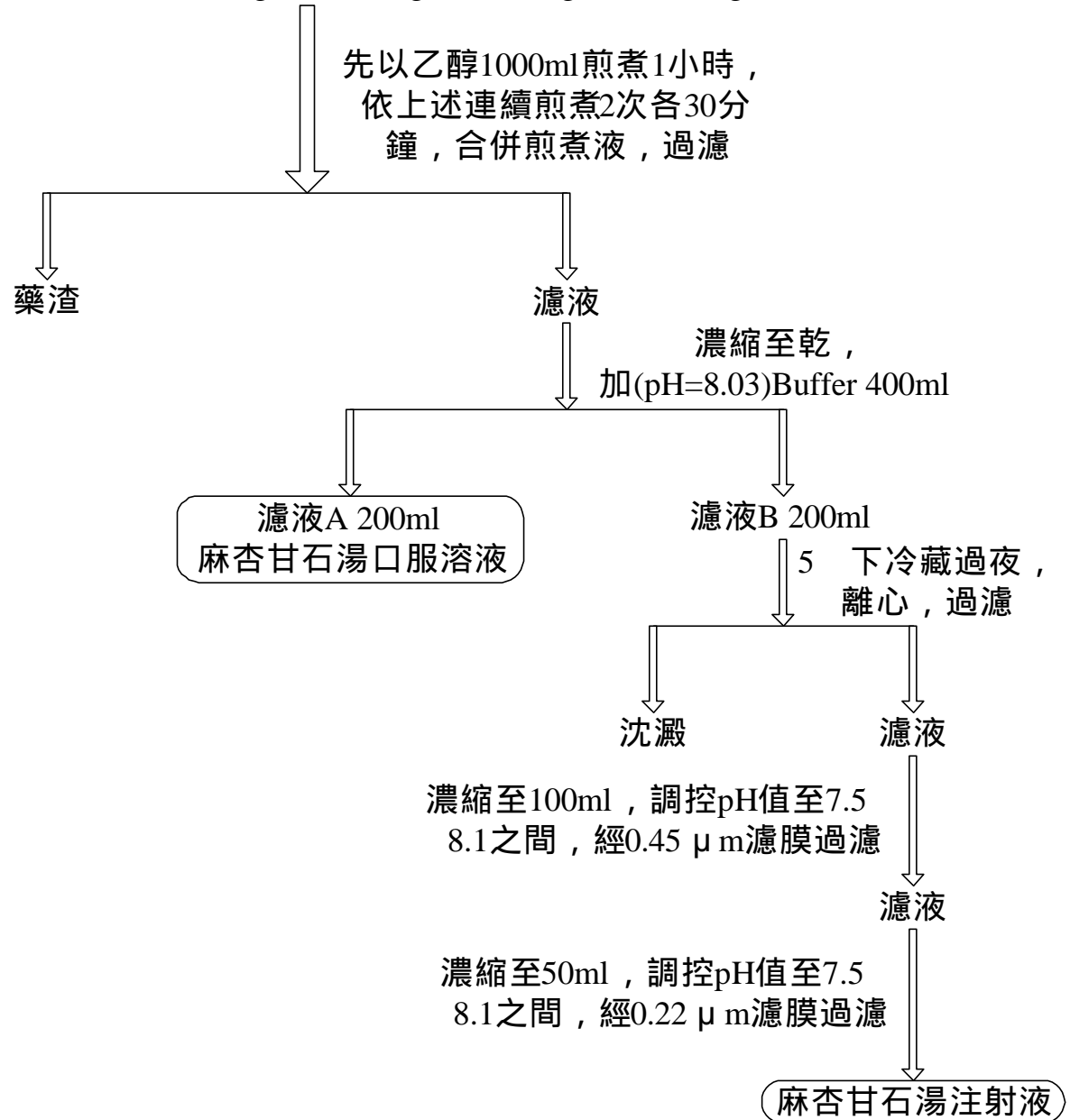
依麻杏甘石湯方中各藥材用量比例 5 : 6 : 9 : 18，秤取飲片麻黃 50g、杏仁 60g、甘草 90g 磨粗粒及石膏 180g，加入乙醇(Ethanol)1000 ml 浸濕後，以 50 60 煎煮一小時後過濾去渣。將過濾出之藥渣以前述步驟操作，每次再加乙醇 1000 ml 煎煮三十分鐘兩次，合併濾液約 1600 ml。將濾液以減壓濃縮至乾，加入 Na₂CO₃ 與 NaHCO₃ 緩衝液(pH=8.03)200 ml 溶解，放冷後置於-4 冷凍櫃備用。

(6) 麻杏甘石湯靜脈注射液(Ma-Shing-Gan-Shyr-Tang solution for intravenous injection)

試驗用麻杏甘石湯注射液之製備過程，如同上述口服溶液方法，只是最後加入 Na_2CO_3 與 NaHCO_3 緩衝液(pH=8.03)200 ml，放置於 5℃ 下冷藏過夜，隔天傾出上清液，將上清液用高速離心機將沉澱物沉降之，取出澄明的上清液集中合併，經濾紙過濾。再濃縮至 100 ml 調控 pH 值至 7.5-8.1 之間，經 0.45 μm 過濾。再濃縮、調控 pH 值，最後得到 50ml 的澄明藥液，經 0.22 μm 過濾，即得麻杏甘石湯注射液。

操作流程如下：

麻杏甘石湯（麻黃50g、杏仁60g、甘草90g及石膏180g）



第二節 實驗方法

1.麻杏甘石湯製劑中指標成分之 HPLC 定量分析方法

A.HPLC 分析條件

a.麻黃鹼(Ephedrine)

層析管(Column)	Inertsil 5 ODS-2(4.6×150mm) VERCOPAK
保護管柱(Pre-column)	ODS-2 VERCOPAK
檢測波長	UV 214 nm
流速	1.0 ml/min
移動相	乙□：0.15M 磷酸二氫鉀水溶液 = 3：97
注入量	25 μl
分析時間	25min.

b.苦杏仁□(Amygdalin)

層析管(Column)	Inertsil 7 ODS-3 (4.6×150mm) VERCOPAK
保護管柱(Pre-column)	7 ODS VERCOPAK
檢測波長	UV 220 nm
流速	1.0 ml/min
移動相	乙□：水 = 8：92
注入量	25 μl
分析時間	25min.

c.甘草酸(Glycyrrhizic acid)

層析管(Column)	Inertsil 5 ODS-2 (4.6×150mm) VERCOPAK
保護管柱(Pre-column)	VERCOPAK ODS-2
檢測波長	UV 254 nm
流速	1.0 ml/min
移動相	甲醇：乙□：0.1%磷酸水溶液 = 6：34：60
注入量	25 μ l
分析時間	30min.

B.標準溶液檢量線之製作

- a. 精確量取含不同濃度之麻黃鹼(Ephedrine)標準溶液 20 μ l, 用甲醇 180 μ l 稀釋成濃度為 0.1 至 100.0 μ g/ml 之標準溶液, 加入 1.2 ml 之二氯甲烷(Dichloromethane)及 5 μ g/ml 對羥基苯甲酸(*p*-hydroxybenzoic acid)之乙□溶液 100 μ l, 並以振盪器振盪 20 秒, 使其混合均勻。再以 5000 rpm 離心 30 分鐘。吸取下層二氯甲烷(總量 1/2)置於另一試管中, 以氮氣噴吹至二氯甲烷完全逸離後, 以適當移動相 200 μ l 溶解之。接著以 HPLC 分析, 由所得之麻黃鹼與對羥基苯甲酸之面積比與校正液濃度作線性回歸以製作檢量線。

- b. 精確量取 20 μ l 含不同濃度之苦杏仁□(Amygdalin)標準溶液用甲醇 180 μ l 稀釋成濃度為 0.3 至 100.0 μ g/ml 之標準溶液。再加入含 1 μ g/ml 茶鹼(Theophylline)內標準品之乙□溶液 600 μ l, 以

振盪器振盪 20 秒。以氮氣噴吹至乙□完全逸離後，以適當移動相 200 μ l 溶解之。接著以 HPLC 分析，由所得之苦杏仁□與茶鹼之面積比與校正液濃度作線性回歸以製作檢量線。

- c. 精確量取 20 μ l 含不同濃度之甘草酸(Glycyrrhizic acid)標準溶液用甲醇 180 μ l 稀釋成濃度為 0.3 至 100.0 μ g/ml 之標準溶液再加入含 0.5 μ g/ml 羥苯丙酯(Propylparaben)內標準品之乙□溶液 600 μ l，以振盪器振盪 20 秒。以氮氣噴吹至乙□完全逸離後，以適當移動相 200 μ l 溶解之。接著以 HPLC 分析，由所得之甘草酸與羥苯丙酯之面積比與校正液濃度作線性回歸以製作檢量線。

C. 麻杏甘石湯注射液中指標成分的定量

- a. 精確量取麻杏甘石湯注射液 0.10 ml 置於 10 ml 容量瓶中，先加入適量甲醇(Methanol)使之溶解，再加入甲醇至刻度，可得稀釋濃度 100 倍之麻杏甘石湯注射液，用 0.45 μ m 過濾薄膜過濾後；精確量取此稀釋之麻杏甘石湯注射液 200.0 μ l 置入試管中，加入 1.2 ml 之二氯甲烷(Dichloromethane)及 5 μ g/ml 對羥基苯甲酸(*p*-hydroxy benzoic acid)之乙□溶液 100 μ l，並以振盪器振盪 20 秒，使其混合均勻。再以 5000 rpm 離心 30 分鐘。吸取下層二氯甲烷(總量 1/2)置於另一試管中，以氮氣噴吹至二氯甲烷完全逸離後，以適當移動相 200 μ l 溶解之。接著以 HPLC 分析。定量結果本實驗用麻杏甘石湯注射液中麻黃鹼含

1.912 mg/ml。

b. 精確量取麻杏甘石湯注射液 0.10 ml 置於 10 ml 容量瓶中，先加入適量甲醇(Methanol)使之溶解，再加入甲醇至刻度，可得稀釋濃度 100 倍之麻杏甘石湯注射液，用 0.45 μm 過濾薄膜過濾後；精確量取此稀釋之麻杏甘石湯注射液 200.0 μl 置入試管中，加入含 1 $\mu\text{g/ml}$ 茶鹼(Theophylline)內標準品之乙□溶液 600 μl ，以振盪器振盪 20 秒，以氮氣噴吹至乙□完全逸離後，以適當移動相 200 μl 溶解，接著以 HPLC 分析。定量結果本實驗用麻杏甘石湯注射液中苦杏仁□含 8.759 mg/ml。

c. 精確量取麻杏甘石湯注射液 0.10 ml 置於 10 ml 容量瓶中，先加入適量甲醇(Methanol)使之溶解，再加入甲醇至刻度，可得稀釋濃度 100 倍之麻杏甘石湯注射液，用 0.45 μm 過濾薄膜過濾後；精確量取此稀釋之麻杏甘石湯注射液 200.0 μl 置入試管中，加入含 0.5 $\mu\text{g/ml}$ 羥苯丙酯(Propylparaben)內標準品之乙□溶液 600 μl ，以振盪器振盪 20 秒，以氮氣噴吹至乙□完全逸離後，以適當移動相 200 μl 溶解，接著以 HPLC 分析。定量結果本實驗用麻杏甘石湯注射液中甘草酸含 4.094 mg/ml。

D.麻杏甘石湯口服液中指標成分的定量

a. 精確量取麻杏甘石湯口服液 0.10 ml 置於 10 ml 容量瓶中，先加入適量甲醇(Methanol)使之溶解，再加入甲醇至刻度，可得

稀釋濃度 100 倍之麻杏甘石湯口服液，用 0.45 μm 過濾薄膜過濾後；精確量取此稀釋之麻杏甘石湯口服液 200.0 μl 置入試管中，加入 1.2 ml 之二氯甲烷(Dichloromethane)及 5 $\mu\text{g/ml}$ 對羥基苯甲酸(*p*-hydroxy benzoic acid)之乙 \square 溶液 100 μl ，並以振盪器振盪 20 秒，使其混合均勻。再以 5000 rpm 離心 20 分鐘。吸取下層二氯甲烷(總量 1/2)置於另一試管中，以氮氣噴吹至二氯甲烷完全逸離後，以適當移動相 200 μl 溶解，接著以 HPLC 分析。其定量結果本實驗用麻杏甘石湯口服液中麻黃鹼含 3.669 mg/ml。

- b. 精確量取麻杏甘石湯口服液 0.10 ml 置於 10 ml 容量瓶中，先加入適量甲醇(Methanol)使之溶解，再加入甲醇至刻度，可得稀釋濃度 100 倍之麻杏甘石湯口服液，用 0.45 μm 過濾薄膜過濾後；精確量取此稀釋之麻杏甘石湯口服液 200.0 μl 置入試管中，加入含 1 $\mu\text{g/ml}$ 茶鹼(Theophylline)內標準品之乙 \square 溶液 600 μl ，以振盪器振盪 20 秒，以氮氣噴吹至乙 \square 完全逸離後，以適當移動相 200 μl 溶解，接著以 HPLC 分析。定量結果本實驗用麻杏甘石湯口服液中苦杏仁 \square 含 8.384 mg/ml。

- c. 精確量取麻杏甘石湯口服液 0.10 ml 置於 10 ml 容量瓶中，先加入適量甲醇(Methanol)使之溶解，再加入甲醇至刻度，可得稀釋濃度 100 倍之麻杏甘石湯口服液，用 0.45 μm 過濾薄膜過濾後；精確量取此稀釋之麻杏甘石湯口服液 200.0 μl 置入試管中，加入含 0.5 $\mu\text{g/ml}$ 羥苯丙酯(Propylparaben)內標準品之乙 \square 溶液

600 μl ，以振盪器振盪 20 秒，以氮氣噴吹至乙 \square 完全逸離後，以適當移動相 200 μl 溶解，接著以 HPLC 分析。定量結果本實驗用麻杏甘石湯口服液中甘草酸含 7.843 mg/ml。

2.麻杏甘石湯血漿檢品中指標成分之 HPLC 定量分析方法

A.HPLC 分析條件

如同上述麻杏甘石湯製劑中指標成分之 HPLC 定量分析方法。

B.血漿檢品之前處理

a. 精確量取血漿檢品 200.0 μl 置入試管中，加入 1.2 ml 之二氯甲烷(Dichloromethane)及 5 $\mu\text{g/ml}$ 對羥基苯甲酸(*p*-hydroxy benzoic acid)之乙 \square 溶液 100 μl ，並以振盪器振盪 20 秒，使其混合均勻。

再以 5000 rpm 離心 30 分鐘。吸取下層二氯甲烷(總量 1/2)置於另一試管中，以氮氣噴吹至二氯甲烷完全逸離後，以適當移動相 200 μl 溶解之。接著以 HPLC 分析。

b. 精確量取血漿檢品 200.0 μl 置入試管中，加入含 1 $\mu\text{g/ml}$ 茶鹼(Theophylline)內標準品之乙 \square 溶液 600 μl ，並以振盪器振盪 20 秒，使蛋白沉澱。再以 5000 rpm 離心 30 分鐘。吸取上清液置於另一試管中，以氮氣噴吹至乙 \square 完全逸離後，以適當移動相 200 μl 溶解之。接著以 HPLC 分析。

- c. 精確量取血漿檢品 200.0 μl 置入試管中，加入含 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 羥苯丙酯(Propylparaben)內標準品之乙 \square 溶液 600 μl ，並以振盪器振盪 20 秒，使蛋白沉澱。再以 5000 rpm 離心 30 分鐘。吸取上清液置於另一試管中，以氮氣噴吹至乙 \square 完全逸離後，以適當移動相 200 μl 溶解之。接著以 HPLC 分析。

C. 檢量線之製作

- a. 精確量取家兔空白血漿 180 μl 加入 20.0 μl 含不同濃度之麻黃鹼(Ephedrine)，配製成濃度為 0.1 至 100.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 之標準血漿檢品液(Table 4)。再加入 1.2 ml 之二氯甲烷(Dichloromethane)及 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 對羥基苯甲酸(*p*-hydroxy benzoic acid)之乙 \square 溶液 100 μl ，並以振盪器振盪 20 秒，使其混合均勻，再以 5000 rpm 離心 30 分鐘。吸取下層二氯甲烷(總量 1/2)置於另一試管中，以氮氣噴吹至二氯甲烷完全逸離後，以適當移動相 200 μl 溶解之。接著以 HPLC 分析，由所得之麻黃鹼與對羥基苯甲酸之面積比與校正液濃度作線性回歸以製作檢量線。
- b. 精確量取家兔空白血漿 180 μl 加入 20.0 μl 含不同濃度之苦杏仁 \square (Amygdalin)標準溶液，配製成濃度為 0.3 至 100.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 之標準血漿檢品液(Table 5)。再加入含 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 茶鹼(Theophylline)內標準品之乙 \square 溶液 600 μl ，以振盪器振盪 20 秒，使蛋白沉澱。再離心 30 分鐘，取上清液。以氮氣噴吹至乙 \square 完全逸離後，以

移動相 200 μl 溶解之。接著以 HPLC 分析，由所得之苦杏仁 \square 與茶鹼之面積比與校正液濃度作線性回歸以製作檢量線。

- c. 精確量取家兔空白血漿 180 μl 加入 20.0 μl 含不同濃度之甘草酸 (Glycyrrhizic acid) 標準溶液，配製成濃度為 0.3 至 100.0 $\mu\text{g/ml}$ 之標準血漿檢品液 (Table 5)。再加入含 0.5 $\mu\text{g/ml}$ 羥苯丙酯 (Propylparaben) 內標準品之乙 \square 溶液 600 μl ，以振盪器振盪 20 秒，使蛋白沉澱。再離心 30 分鐘，取上清液。以氮氣噴吹至乙 \square 完全逸離後，以移動相 200 μl 溶解之。接著以 HPLC 分析，由所得之甘草酸與羥苯丙酯之面積比與校正液濃度作線性回歸以製作檢量線。

Table 4 麻黃鹼標準濃度血漿檢品溶液之製備

標準溶液濃度 ($\mu\text{g/ml}$) (取 20 μl)	空白血漿體積 (μl)	濃度 ($\mu\text{g/ml}$)
1000	180	100.0
500	180	50.0
100	180	10.0
50.0	180	5.00
30.0	180	3.00
10.0	180	1.00
5.00	180	0.50
1.00	180	0.10

Table 5 苦杏仁□及甘草酸標準濃度血漿檢品溶液之製備

標準溶液濃度		
($\mu\text{g/ml}$) (取 20 μl)	空白血漿體積 (μl)	濃度 ($\mu\text{g/ml}$)
1000	180	100.0
500	180	50.0
100	180	10.0
50.0	180	5.00
30.0	180	3.00
10.0	180	1.00
5.00	180	0.50
3.00	180	0.30

D.回收率實驗

目的在比較添加麻黃鹼、苦杏仁□及甘草酸在空白血漿和空白溶液(Methanol)中，經血漿檢品之前處理步驟處理後檢出量之差異。實驗步驟如同校正曲線製作中對檢品之處理過程。回收率可從下式求得：

$$\text{Recovery (\%)} = \frac{\text{Standard concentration in plasma}}{\text{Standard concentration in methanol}} \times 100\%$$

得：

E.精確性試驗

為了確認麻黃鹼(Ephedrine)、苦杏仁 \square (Amygdalin)及甘草酸(Glycyrrhizic acid)定量分析方法之精確性，因此做同日內(Intraday)及間日內(Interday)的精確性比較。同日內試驗是以不同濃度之含麻黃鹼、苦杏仁 \square 及甘草酸標準濃度血漿檢品，分別於同一日的早上、中午、晚上各建立一次檢量線，計算各個校正液濃度之平均值(Mean)、標準偏差(S.D.)及變異係數(C.V.)。若於不同天以同法操作則可得到間日內的精確性比較。

F.靈敏度試驗

分析過程中，欲找出能被檢定出之最低濃度，但不需要能夠被定量，故做偵測極限試驗(Limit of detection, LOD)，利用層析時之反應值之標準差與定量校正線之斜率為考量標準。而偵測極量(Limit of quantitation, LOQ)，將依前述「檢量線之製作」，採標準濃度血漿檢品製備方法，取六次檢品分析決定之。

$$\text{LOD}=3.3\times \text{ } /S$$

$$\text{LOQ}=10\times \text{ } /S$$

：空白檢品之背景反應值之標準差

S：定量校正線之斜率

G.安定性試驗

(1)麻黃鹼、苦杏仁 \square 及甘草酸在家兔血漿中於-30 下之安定性試驗

取濃度為 10.0, 50.0, 100 $\mu\text{g/ml}$ 之含麻黃鹼、苦杏仁 \square 及甘草

酸標準溶液 500 μl ，加入 4500 μl 之空白血漿中，振盪一分鐘以混合均勻，即得濃度為 1.00, 5.00, 10.0 $\mu\text{l}/\text{ml}$ 之血漿檢品，將之分裝後置於-30 的冷凍櫃中，於第 0, 1, 3, 6, 10, 15, 21 天分別取出一組檢品(n=3)。解凍後，依血漿檢品之前處理方法處理後，以 HPLC 分析，觀察麻黃鹼、苦杏仁 \square 及甘草酸之濃度變化情形。

(2)麻黃鹼、苦杏仁 \square 及甘草酸在家兔血漿中於 37 下之安定性試驗

取濃度為 10.0, 50.0, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 之含麻黃鹼、苦杏仁 \square 及甘草酸標準溶液 500 μl ，加入 4500 μl 之空白血漿中，振盪一分鐘以混合均勻，即得濃度為 1.00, 5.00, 10.0 $\mu\text{l}/\text{ml}$ 之血漿檢品，將之分裝後置於 37 \pm 2 的恆溫箱中，於第 0, 1, 3, 6, 12, 24, 36, 48 小時，分別取出一組檢品(n=3)，依血漿檢品之前處理方法處理後，以 HPLC 分析，觀察麻黃鹼、苦杏仁 \square 及甘草酸之濃度變化情形。

3.麻杏甘石湯指標成分在家兔體內之藥物動力學

A.實驗設計

取雄性家兔六隻，體重介於 2.0 至 2.8 公斤之間，每隻家兔以交叉試驗法進行指標成分注射液靜脈注射、麻杏甘石湯靜脈注射與麻杏甘石湯口服(P.O.)給藥，實驗家兔之重量、給藥順序及劑量示於 Table 6，每次給藥後至下次給藥，時間須相隔一週以上。

Table 6 實驗家兔之體重、給藥順序及劑量

Rabbit No.	1	2	3	4	5	6
Weight (Kg)	2.6	2.3	2.6	2.2	2.1	2.5
	2.2	2.6	2.5	2.4	2.3	2.3
	2.5	2.7	2.3	2.7	2.2	2.7
投藥順序	A	B	C	A	B	C
	B	C	A	B	C	A
	C	A	B	C	A	B
Ephedrine 實際投藥劑量 (mg)	14.6	4.4	95.4	12.3	4.0	91.7
	4.2	95.4	14.0	4.6	84.4	12.9
	91.7	13.4	4.4	99.0	12.6	5.2
Amygdalin 實際投藥劑量 (mg)	17.4	20.1	217.9	14.7	18.4	209.5
	19.3	217.9	16.8	21.0	192.7	15.4
	209.5	16.1	20.1	226.3	14.7	23.6
Glycyrrhizic acid 實際投藥 劑量(mg)	26.0	9.4	203.9	22.0	8.6	196.1
	9.0	203.9	25.0	9.8	180.4	23.0
	196.1	24.0	9.4	211.8	22.0	11.0
備註	A：麻黃鹼、苦杏仁□及甘草酸靜脈注射液 B：靜脈注射麻杏甘石湯靜脈注射液 C：口服麻杏甘石湯口服溶液					

B. 給藥法及檢品處理

(1) 指標成分注射液靜脈注射給藥及血漿檢品之處理：

實驗前家兔先稱重記錄實際體重以便配製注射溶液。實驗時將兩耳之毛剃除後關入限制籠內，接著以燈泡照射兔耳使其血管擴張，再以酒精棉消毒並助血管擴張，隨即插入靜脈留置針，將針塞 (Injection plug) 注滿肝素鈉溶液後，固定於靜脈留置針上。每次採血後均由針塞注入 25 I.U./ml 之肝素鈉溶液約 0.2 ml，以防靜脈留置針管內之血液凝固。投藥前先抽取 1.3ml 之空白血液，由另一耳

靜脈投藥後，分別於投藥後 2.5, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 300 及 360 分鐘由靜脈留置針之針塞抽取 1.3ml 血液，置於試管中，以 3000 rpm 轉速離心 20 分鐘後，取出上層血漿，即保存於-30 之冷凍櫃中。

血漿檢品之前處理，檢量線及分析條件均依前述方法操作，麻黃鹼、苦杏仁 \square 及甘草酸之濃度則由標準曲線經內插法推算而得。

(2)麻杏甘石湯靜脈注射給藥及血漿檢品處理：

如同上述指標成分靜脈注射給藥方式。

(3).麻杏甘石湯口服給藥及血漿檢品處理：

口服給藥實驗前家兔至少禁食 24 小時，實驗期間亦不進食。實驗時家兔之處理如同上述靜脈注射給藥方式，惟口服給藥法是以張口器將家兔之口張開後，再以胃管插入給藥。而其採血點為給藥後之 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270, 300, 360, 420, 480, 540, 600 分鐘。

C.數據處理及統計方法

各種給藥法所取得之血漿檢品經 HPLC 法定量後，依標準曲線換算麻杏甘石湯指標成分，麻黃鹼(Ephedrine)、苦杏仁 \square (Amygdalin)及甘草酸(Glycyrrhizic acid)之血中濃度數據後，利用電腦程式 JANA⁽⁶⁶⁾、WINNONLIN⁽⁶⁷⁾及 LAGRAN-P 等，分別利用配適後的分室及非分室理論來計算相關之藥物動力學參數。

(1)一室體模式(One Compartment Model)

分析而得之各個指標成分血中濃度數據，經 JANA PROGRAM 作 Weighting、One Exponential Curve stripping 處理，取其 Volume/F、 K_{01} 及 K_{10} 的數值。再用 WINNONLIN PROGRAM 作曲線配適(Curve Fitting)取最適合的室體模式，求其相關藥動學參數。

(2)二室體模式(Two Compartment Model)

分析而得之各個指標成分血中濃度數據，經 JANA PROGRAM 作 Weighting、Two Exponential Curve stripping 處理，取其 A、B、 α 及 β 的數值。再用 WINNONLIN PROGRAM 作曲線配適(Curve Fitting)取最適合的室體模式，求其相關藥動學參數。

(3)非分室理論

以靜脈注射及口服給予家兔所得血漿檢品，由分析而得之各個指標成分血中濃度數據，經 LAGRAN-P PROGRAM 處理，可由非分室理論計算相關藥動學參數。由上述所得之藥動學參數以統計學 t-test 比較 WINNONLIN 及 LAGRAN-P 二種程式處理後所得之藥物學參數(AUC, CL, $T_{1/2}$, VD_{SS})，另以統計學 One Way ANOVA 處理，比較不同投藥間藥動學參數之差異。