

中國醫藥大學 藥學院
藥學系碩士班 碩士論文

指導教授：張淑貞 副教授

奈米化與傳統方劑三黃瀉心湯之指標成分比較
分析研究

**Comparative Study on Marker Components of
Nanoscale and Traditional Chinese Medicine
San-Huang-Shel-Shin-Tang**

研究生：劉鳳樟

Fon-Chang Liu

中 華 民 國 九 十 六 年 七 月

目錄

目錄	I
表目錄	III
圖目錄	V
中文摘要	VIII
英文摘要	X
第一章 緒論	1
第二章 總論	4
第一節 奈米中藥研究概況之文獻考察	4
第二節 研究目的	9
第三節 三黃瀉心湯之出處與應用	10
第四節 三黃瀉心湯之研究概況	11
第五節 三黃瀉心湯活性成分的性質	17
第三章 研究材料和方法	24
第一節 研究材料	24
第二節 實驗方法	27
第四章 結果與討論	40

第一節 結果	40
第二節 討論	47
第五章 結論	51
參考文獻	84



表目錄

表 1	國外奈米中藥研究之文獻考察	4
表 1-1	國外奈米中藥研究之文獻考察	5
表 1-2	國外奈米中藥研究之文獻考察	6
表 2	國內奈米中藥研究現況	7
表 2-1	國內奈米中藥研究現況	8
表 3	三黃瀉心湯 HPLC 定量分析文獻整理	11
表 3-1	三黃瀉心湯(片)HPLC 定量分析文獻整理	12
表 3-2	三黃瀉心湯(片)HPLC 定量分析文獻整理	13
表 4	三黃瀉心湯 CE 定量分析文獻整理	13
表 5	三黃瀉心湯粒徑分析(1)	40
表 6	三黃瀉心湯粒徑分析(2)	40
表 7	The regression equations, concentration range and correlation coefficient of constituents in SHSST	41
表 8	The Limit of detection(LOD) and Limit of Quantitation(LOQ) of constituents in SHSST	41
表 9	Intraday and interday analytical precisions of three concentrations (6.2.5-100.0 µg/mL) of constituents in SHSST	42
表 10	奈米化三黃瀉心湯六種指標成分在甲醇中的回收率	43
表 11	三黃瀉心湯指標成分含量	44
表 12	三黃瀉心湯指標成分含量	45

表 13 奈米化三黃瀉心湯醇萃指標成分含量比對表-----46

表 14 奈米化三黃瀉心湯水煎指標成分含量比對表-----46

表 15 三黃瀉心湯水煎劑指標成分 baicalein 含變化表-----46



圖目錄

圖 1	三黃瀉心湯 baicalin 紅外光光譜圖	52
圖 2	三黃瀉心湯 baicalein 紅外光光譜圖	52
圖 3	三黃瀉心湯 berberine 紅外光光譜圖	53
圖 4	三黃瀉心湯奈米化原藥材紅外光光譜圖	53
圖 5	三黃瀉心湯奈米濃縮中藥紅外光光譜圖	54
圖 6	三黃瀉心湯濃縮中藥紅外光光譜圖	54
圖 7	三黃原奈米化藥材放大 3500 倍電顯圖	55
圖 8	三黃奈米化原藥材放大 5000 倍電顯圖	55
圖 9	三黃奈米化濃縮中藥放大 750 倍電顯圖	56
圖 10	三黃濃縮中藥放大 100 倍電顯圖	56
圖 11	黃芩粗粉放大 50 倍電顯圖	57
圖 12	UV spectrum of baicalin	57
圖 13	UV spectrum of baicalein	58
圖 14	UV spectrum of wogonin	58
圖 15	UV spectrum of berberine	59
圖 16	UV spectrum of palmatine	59
圖 17	UV spectrum of chrysophanol	60
圖 18	indomethacin(IS)高效液相層析圖譜	61

圖 19	baicalin 高效液相層析圖譜-----	62
圖 20	baicalein 高效液相層析圖譜-----	63
圖 21	wogonin 高效液相層析圖譜-----	64
圖 22	berberine 高效液相層析圖譜-----	65
圖 23	palmatine 高效液相層析圖譜-----	66
圖 24	chrysophanol 高效液相層析圖譜-----	67
圖 25	三黃瀉心湯指標成分高效液相層析圖譜-----	68
圖 26	三黃瀉心湯奈米化原藥材甲醇萃取高效液相層析圖譜-----	69
圖 27	三黃瀉心湯奈米化濃縮中藥甲醇萃取高效液相層析圖譜-----	70
圖 28	三黃瀉心湯濃縮方劑甲醇萃取高效液相層析圖譜-----	71
圖 29	三黃瀉心湯粗粉甲醇萃取高效液相層析圖譜-----	72
圖 30	三黃瀉心湯原藥材甲醇萃取高效液相層析圖譜-----	73
圖 31	三黃瀉心湯奈米化原藥材水萃高效液相層析圖譜-----	74
圖 32	三黃瀉心湯奈米化濃縮中藥水萃高效液相層析圖譜-----	75
圖 33	三黃瀉心湯濃縮中藥水萃高效液相層析圖譜-----	76
圖 34	三黃瀉心湯粗粉水萃高效液相層析圖譜-----	77
圖 35	三黃瀉心湯原藥材水萃高效液相層析圖譜-----	78
圖 36	三黃瀉心湯奈米化原藥材水煎高效液相層析圖譜-----	79
圖 37	三黃瀉心湯奈米化濃縮中藥水煎高效液相層析圖譜-----	80

圖 38	三黃瀉心湯濃縮中藥水煎高效液相層析圖譜-----	81
圖 39	三黃瀉心湯粗粉水煎高效液相層析圖譜-----	82
圖 40	三黃瀉心湯原藥材水煎高效液相層析圖譜-----	83



中文摘要

三黃瀉心湯為臨床常用方劑，出自金匱要略，由黃芩、大黃、黃連三種中藥組成，用於治療煩躁不安、吐血、衄血、三焦實熱等症。本研究的目的是建立一種奈米中藥分析方法，藉由 HPLC 定量三黃瀉心湯奈米劑型中的 baicalin、baicalein、wogonin、berberine、palmatine、chrysophanol 等六種指標成分的含量，並與傳統方劑作一比較，以探討奈米化對指標成分含量的影響，作為未來制定奈米中藥用藥安全的評估及衛生主管機構制定政策的參考。

三黃瀉心湯奈米化原藥材之粒徑約 150 nm，奈米化濃縮方劑之粒徑約 440nm，推測植物的細胞膜和細胞壁完全被破碎，有效成分可以直接溶出。且其表面積變大，更有利藥物有效成分溶出，然而三黃瀉心湯原藥材其細胞膜和細胞壁大部分仍是完整的，有效成分的溶出必須經過擴散和滲透作用，因此溶出速率較慢。

實驗結果顯示，比較奈米化原藥材、奈米化濃縮方劑、濃縮方劑、粗粉與三黃瀉心湯原藥材五種狀態之指標成分 wogonin、berberine、palmatine、chrysophanol 的含量，以甲醇萃取部份奈米化都較濃縮方劑、粗粉、原藥材所萃取含量高，而溫度對方劑的影響，以水作溶媒，在高溫萃取的狀態下會造成奈米化三黃瀉心湯與三黃瀉心湯粗粉中

baicalein 的含量顯著減少，而各種粒徑的三黃瀉心湯在高溫下都會造成 wogonin 的破壞，所檢測之含量減少。就 baicalin 含量探討，當溶媒為水且在高溫萃取的狀態下，奈米化三黃瀉心湯、三黃瀉心湯原藥材及三黃瀉心湯粗粉的含量與常溫時萃取的含量作一比較，三者含量皆增加，而三黃瀉心湯奈米化濃縮方劑、三黃瀉心湯濃縮方劑含量顯著減少。推測為濃縮方劑再經高溫萃取時造成 baicalin 的破壞所致。

利用 HPLC 定量奈米三黃瀉心湯甲醇中指標成分 baicalin、baicalein、wogonin、berberine、palmatine、chrysophanol 含量，結果 baicalin、baicalein、wogonin、berberine、palmatine、chrysophanol 含量分別為 12.25 ± 0.7 、 6.72 ± 0.02 、 1.28 ± 0.02 、 2.68 ± 0.03 、 0.46 ± 0.02 、 0.70 ± 0.03 mg/g

由紅外光譜及 HPLC 層析圖結果顯示，奈米化前後指標成分之吸收峯或滯留時間並未改變證明奈米製程後藥材仍是處於安定狀態。

關鍵詞: 三黃瀉心湯、奈米中藥、指標成分、傳統方劑

英文摘要

San-Huang-Shel-Shin-Tang(SHXXT) is a popular traditional Chinese medicine formula from "Jin Kui Yao Lve", including Huang Qin(Scutellariae Radix), Da Huang (Rhei Rhizoma) and Huang Lian(Coptidis Rhizoma). It usually treatment relessness, hematemesis and epistaxis, sthenia-heat of triple warmer. This research is establishes nanosizing chinese medicine analysis method, the study on comparative analysis of marker components of baicalin · baicalein · wogonin · berberine · palmatine · chrysophanol of nanoscale and traditional Chinese medicine San-Huang-Shel-Shin-Tang (SHSST) were quantified by HPLC method, taht discussed the nanosizing affect marker components, this study will take the formulation of nanosizing Chinese medicine medication security the appraisal in furure and the government department of health constitute the policy making reference in future.

The herbal medicine by way of nanosizing , particle size is 140nm, by calculation the plant of cell membrane and the cell wall break completely, the effective component may dissolve directly. And its surface area became big and make the more advantage medicine effective component dissolves, however the majority of cell membrane and cell wall at individual traditional herbal medicine of San-Huang-Shel-Shin-Tang were still complete, the effective component dissolves must according to the diffusion and the osmosis, therefore the rate of dissolution will be decreased.

When the herbal medicine by way of nanosizing, as compared with six marker components of wogonin · berberine · palmatine · chrysophanol in methanol extract, the result showed that the nanosizing of SHXXT more than commercial extract, coarse powder and herbal medicine, in high temperature condition and solution is water, the concentration of baicalein in nanosizing of SHXXT and coarse power of SHXXT reduce very rapidly and wogonin at each kind of particle size of SHXXT were be destruction. When solution is water by comparative normal and high temperature condition, the amount of baicalin in nanosizing of SHXXT and coarse powder of SHXXT all increase, but the nanosizing of commercial extract and commercial extract was reducted. By calculation the high temperature of water solution make baicalin destruction.

San-Huang-Shel-Shin-Tang were quantified marker components of baicalin、baicalein、wogonin、berberine、palmatine、chrysophanol by HPLC method, the content of baicalin、baicalein、wogonin、berberine、palmatine、chrysophanol is 12.25 ± 0.7 、 6.72 ± 0.02 、 1.28 ± 0.02 、 2.68 ± 0.03 、 0.46 ± 0.02 、 0.70 ± 0.03 mg/g .

By way of compared IR spectrum and the HPLC chromatographic, the absorption peak and the retention time is not changes, the result demonstrated for nanoscale of herbal medicine still stabilizes and does not destruction the structure.



Keyword: San-Huang-Shel-Shin-Tang、Nanosizing Chinese medicine
marker components、traditional chinese medicine formula

第一章 緒論

中藥的應用目前為各國所重視，而中藥在我國使用已有悠久的歷史且療效顯著，由於中藥製劑因為組成成分複雜，且方劑往往在製造過程中常需添加一些賦形劑以期增加其崩散或安定性，如此勢必影響其藥效，如能利用奈米技術發展出劑量低且療效高的藥物，對於提昇藥效，減少藥材的消耗將有莫大助益。

奈米技術最早於1990年7月在美國的巴爾地摩召開的第一屆國際奈米科學與奈米技術(nanoscale science and technology, NST) 會議中提出⁽¹⁾，奈米技術是多種學科交叉的廣泛學科，”奈米”的意義不單是指微觀的空間尺度大小，主要運用奈米技術來尋求物質或性能的改變，不在侷限於”尺度”大小的狹窄範圍。

奈米技術目前是各國研發的重點項目之一，如美國負責奈米技術研發的單位---美國國家奈米技術先導(National Nanotechnology Initiative, 簡稱NII)至2004年初已經投入35億美元經費從事相關的研發工作，2003年11月美國國會更通過第21奈米科技研發法案，同年12月，由小布希總統簽署成法案，授權NII在未來四年中執行高達37億美元研究經費⁽²⁾，可見奈米技術的研發在超級強國如火如荼的展開。

我國則在 2003 年 6 月通過奈米國家型科技計畫，總計畫時程六年，投入經費高達新台幣 206 億元，並 2004 年元月正式施行。該項計畫已明確規劃出一條成為主要奈米科技產業化國家的途徑。

現階段利用奈米技術可製造兩種類型的奈米粒子:1.奈米微粒載體，2.奈米藥物製劑。後者是利用原料藥直接加工成奈米粒子，其本質是微粉化和超細粉兩項技術的延伸。

1998年，徐輝碧教授⁽³⁾等率先提出了“奈米中藥”的概念，奈米中藥是指運用奈米技術製造粒徑小於100微米的中藥有效成分、有效部位、原藥材及其複方製劑。

目前萃取中藥有效成分有許多技術，如微波法、破碎萃取法、超音波法與酵素法等，以往最常使用的中藥微米技術主要是利用破碎萃取法，藉由破壞中藥材的細胞壁，再萃取其細胞組織中的活性成分，當細胞壁破損率達 70~80%時，中草藥中的活性成分利用率將可提高至 60~70%，藥效則增加 8 倍⁽⁴⁾。

一般的濃縮中藥萃取物顆粒，平均粒徑約為 300 微米，且通常也添加了大量的賦型劑，如澱粉等。而人體細胞的大小約為 10 微米，如以奈米化技術研磨粉碎到 0.5~10 微米以下，植物細胞破壁率將可達 95%，不但不需要添加太多賦形劑，且可以增加人體吸收速度與強度⁽⁵⁾。

自民國 94 年 3 月 1 日起，中藥廠已全面符合 GMP 規範，至於中藥之製造先決條件也必須是安全的、均一的、有效的、無毒以及無副作用，且不能影響其療效。奈米藥物由於使藥物顆粒變小，勢必影響到藥物本身的物化性質、藥效等，

目前 GMP 藥廠最常以中藥之指標成分做為品質管制的方法，因此本研究目的在建立一種奈米中藥分析方法，藉由 HPLC 定量三黃瀉心湯奈米劑型中的 baicalin、baicalein、wogonin、berberine、palmatine、chrysophanol 等六種指標成分的含量，並與傳統方劑作一比較，以探討奈米化對指標成分的影響，作為未來發展奈米中藥製程，制定奈米中藥用藥安全的評估及衛生主管機構未來制定政策的參考。

第二章 總論

第一節 奈米中藥研究概況之文獻考察

表 1 國外奈米中藥研究之文獻考察

藥材	結論	參考 文獻
石決明	在血清中發現奈米石決明的活性成分的含量有顯著大於微米石決明。在動物實驗發現奈米化石決明的生體可用率變高。	6
青蒿 油	青蒿油奈米脂質體對瘧瘧桿菌抑菌效果大於青蒿油	7
砷	新形的含砷奈米中藥可有效提高藥物的生體可用率，利於服用吸收，增強療效，在抗癌實驗中顯示了明顯的優越性。	8
天門冬	水提液及其奈米中藥均有抗氧化作用，且奈米中藥比水提液藥效更好。	9
番瀉葉	可作為一種微生態調節劑，以調整腸道微生態失衡角度來治療潰瘍性結腸炎，具有不錯的療效。	10

表 1-1 國外奈米中藥研究之文獻考察

藥物	結論	參考 文獻
天地湯	奈米化劑型改善小鼠抗氧化的機能優於超音波水提液	11
女貞子	對激素造成的小鼠腸道菌群失調具有調整作用，減少細菌的易位，是良好的腸道微生態調節劑。	12
爐甘石	成分奈米ZnO，由於顆粒的粒徑減小，比表面積增加，增強ZnO與細菌的親和力，提高抗菌的效率，爐甘石奈米化後，體外抗菌活性顯著增強，生體可用率變高。	13
六味地黃	紅外光譜和高效液相層析測試結果證明六味地黃奈米化後，有效成分的結構沒有發生變化，且有效成分抽提率較高。	14
鈣	奈米鈣補腎中藥複方明顯促進成骨細胞增殖，因而促進骨的形成,是補腎中藥治療骨質疏鬆症的機制之一。	15

表 1-2 國外奈米中藥研究之文獻考察

藥物	結論	參考 文獻
鎖陽	利用奈米鎖陽治療高血氨所誘發的肝性腦病變有不錯的療效。	16
三鹿方	奈米三鹿方的抗骨質疏鬆能力增加且藥效優於普通粉劑。	17
雄黃	與正常劑型比較奈米化雄黃在低濃度對 HL260 細胞具有誘導分化作用。	18
鹿茸	鹿茸粗多肽組、奈米鹿茸粗多肽組較正常組細胞數量密集，表示鹿茸粗多肽、奈米鹿茸粗多肽能促進軟骨細胞增殖，其中奈米鹿茸粗多肽促進軟骨細胞增殖作用最強。	19
龍膽草 複方製劑	龍膽草的複方製劑經奈米化後對實驗的大鼠具有良好的抗癲癇作用。	20
四君子湯	2 種不同粒徑的中藥都有扶植腸道正常菌群生長及促進腸黏膜損壞修復的功能，控制細菌易位。奈米中藥效果優於一般粒徑中藥，且用藥量較小。	21

表 2 國內奈米中藥研究現況

藥物	結論	參考 文獻
甘草	探討奈米化對甘草成分之影響探討	22
大葉骨 碎補、川 牛膝、續 斷、健步 丸	發現四種藥物皆有促進細胞分化的效果，且奈米化的實驗組在時間上和藥效上皆比對照組來得快且高。	23
板藍根	文章提及臨床上發現板藍根(Isatis spp)可防治多種病毒感染性疾病外對慢性白血病(chronic myelocytic leukemia, CML)、肝炎、腦炎及丹毒(erysipelas)等重大疾病具有明顯療效。其研究成果將先界定在蓄產業之應用，希望利用板藍根在中藥的解毒、消炎功效，取代西藥的抗生素，達到減少抗生素的使用。	24

表 2-1 國內奈米中藥研究現況

藥物	結論	參考 文獻
紫草油	紫草奈米微包凝膠抗菌及促進傷口癒合效果優於磺胺銀及市售品。	25
人蔘	計畫成果將提供人蔘微、奈米化之適當製程技術，並得到人蔘藥材經微米化及奈米化後物性、化性、指標成份、生物安全性、藥效及穩定性之數據資料，對人蔘微、奈米化之實質應用與經濟價值提供參考數據。	26
三黃瀉 心湯	掌握微奈米化製程與成分、細胞、動物評估間之關聯性，建立中草藥奈米製程產品之評估與技術平台。	27
檸檬酸 鈣、碳酸 鈣、大豆 異黃酮 與紅花	其研究在於評估防治骨質疏鬆症之保健效益，找出建議攝取量，與傳統保健食品做比較，另外還須測試保健食品對造骨細胞與蝕骨細胞功能的直接影響，影響細胞凋亡或細胞增生情形。	28

第二節 研究目的

奈米藥物由於使藥物顆粒變小，勢必影響到藥物本身的物化性質、藥效等，因此本研究目的在探討三黃瀉心湯經奈米化前後在不同的萃取溶媒及溫度對其指標成分是否有所影響以及奈米化技術是否有助於提昇傳統中藥方劑指標成分含量釋出率，並且利用儀器分析奈米製程前後三黃瀉心湯指標成分是否產生變化，進而藉由 HPLC 定量三黃瀉心湯奈米劑型中的 baicalin、baicalein、berberine、palmatine、wogonin、chrysophanol 六種指標成分的含量，建立奈米中藥分析方法，作為未來制定奈米中藥品質管制用藥安全的評估及衛生主管機構制定政策的參考。

第三節 三黃瀉心湯之出處與應用

三黃瀉心湯來源與主治

三黃瀉心湯出自金匱要略⁽²⁹⁾，為臨床常用方劑，由大黃、黃連、黃芩三種中藥組成，用於治療三焦實熱、心氣不足、吐血、衄血、腹部痞滿及實熱便秘等症。

三黃瀉心湯一般用於腦溢血發作後之處方，亦有用於流鼻血、咳血、子宮出血等出血所引起之驚恐作用，亦可處方於高血壓或動脈硬化症所產生之煩躁不安的症狀，此外亦有用於失眠、便秘、女性經血不順、精神衰弱亦有相當療效⁽³⁰⁾。

在中國大陸文獻中提及三黃瀉心湯在動物研究中具有類似雙胍類藥物降血糖作用⁽³¹⁾。

第四節 三黃瀉心湯之研究概況

三黃瀉心湯研究方向分為：

一、三黃瀉心湯的品質評估

有文獻報導指出在體外交互作用上發現黃連分別與大黃或黃芩煎煮時，會產生沉澱的情形而使活性成分含量降低；複方的活性成分和單方相比，則複方的活性成分會有延緩釋出的效果⁽³²⁾；且有研究報告完成三黃瀉心湯分析方法之開發研究⁽³³⁻⁴⁰⁾；另有研究針對於三黃片之不同成分指標成分之分析⁽⁴¹⁻⁴⁴⁾，列表如下：

表 3 三黃瀉心湯(片)HPLC 定量分析文獻整理

編號	移動相	流速 (ml/min)	檢測 波長 (nm)	參考 文獻																	
1		1	254	32																	
	<table border="1"><thead><tr><th>時間 (分)</th><th>CH₃CN (%)</th><th>0.01M Pentasulfonic acid sodium salt (%)</th></tr></thead><tbody><tr><td>0</td><td>15</td><td>85</td></tr><tr><td>15</td><td>20</td><td>80</td></tr><tr><td>50</td><td>55</td><td>45</td></tr><tr><td>60</td><td>90</td><td>10</td></tr><tr><td>65</td><td>90</td><td>10</td></tr></tbody></table>	時間 (分)	CH ₃ CN (%)	0.01M Pentasulfonic acid sodium salt (%)	0	15	85	15	20	80	50	55	45	60	90	10	65	90	10		
時間 (分)	CH ₃ CN (%)	0.01M Pentasulfonic acid sodium salt (%)																			
0	15	85																			
15	20	80																			
50	55	45																			
60	90	10																			
65	90	10																			

表 3-1 三黃瀉心湯(片)HPLC 定量分析文獻整理

編號	移動相	流速 (ml/min)	檢測 波長 (nm)	參考 文獻															
2	(0.2%磷酸-0.2%三乙胺) pH=3): 乙晴/甲 醇(3/2)	1	275	33															
<table border="1"> <thead> <tr> <th>時間 (分)</th> <th>A (%)</th> <th>B (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>65</td> <td>35</td> </tr> <tr> <td>1</td> <td>65</td> <td>35</td> </tr> <tr> <td>8</td> <td>20</td> <td>80</td> </tr> <tr> <td>20</td> <td>20</td> <td>80</td> </tr> </tbody> </table>					時間 (分)	A (%)	B (%)	0	65	35	1	65	35	8	20	80	20	20	80
時間 (分)	A (%)	B (%)																	
0	65	35																	
1	65	35																	
8	20	80																	
20	20	80																	
3		1	250	35															
<table border="1"> <thead> <tr> <th>時間 (分)</th> <th>CH₃CN (%)</th> <th>0.1%H₃PQ₄ (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>65</td> <td>35</td> </tr> <tr> <td>1</td> <td>65</td> <td>35</td> </tr> <tr> <td>8</td> <td>20</td> <td>80</td> </tr> <tr> <td>20</td> <td>20</td> <td>80</td> </tr> </tbody> </table>					時間 (分)	CH ₃ CN (%)	0.1%H ₃ PQ ₄ (%)	0	65	35	1	65	35	8	20	80	20	20	80
時間 (分)	CH ₃ CN (%)	0.1%H ₃ PQ ₄ (%)																	
0	65	35																	
1	65	35																	
8	20	80																	
20	20	80																	
4	0.1%磷酸:乙晴, 磷酸比例隨時間改變 77%(1-10 min)、80%(15-20 min)、 78%(30-45 min)、62%(50-60)、:30%(65-95 min)、30%(100 min), 流速亦隨時間改變, 1.0 mL/min(0-68 min)、0.2 mL/min(68-70 min)、1.0 mL/min(78-100 min)	1	250	36															
5	甲醇:冰醋酸 = 99.9:0.01	1	254	40															
6	0.02M 磷酸(以 TEA 調整 pH = 6.78):乙晴: 甲醇= 40:9:7	1	254	41															

表 3-2 三黃瀉心湯(片)HPLC 定量分析文獻整理

編號	移動相	流速 (ml/min)	檢測 波長 (nm)	參考 文獻
7	乙睛:0.02M醋酸銨(以冰醋酸調整pH = 3.5)梯度沖提	1	270	42
8	甲醇:0.1%冰醋酸 = 90:10	1	254	43

表 4 三黃瀉心湯 CE 定量分析文獻整理

編號	移動相	參考 文獻
9	pH = 7.3 , 3 mM di-sodium tetraborate 、 10 mM sodium dihydrogen phosphate 、 50 mM sodium deoxycholate與 30%乙睛之混合溶液。	44

二、 三黃瀉心湯藥理探討

(1)降血壓及焦慮作用

以三黃瀉心湯治療本態性高血壓之研究，發現其有不錯的降壓效果與降低三酸甘油酯與總膽固醇的作用⁽⁴⁵⁻⁴⁷⁾。對於中樞神經系統之藥理學研究上，獲知三黃瀉心湯具有治療高血壓與解除焦慮不安的療效，研究人員推測除了與其抑制中樞神經系統 catechminergic system 以及促進 GABAergic system 的活性所產生的結果，研究中亦發現與降低腦內 norephine 及 dopamine 的轉換率有關⁽⁴⁸⁾。在針對交感神經活性與焦慮之研究中指出：三黃瀉心湯可能兼具抑制交感神經活性及心臟血管反應性之作用而達到降低焦慮的作用⁽⁴⁹⁾。

(2)抗發炎

三黃瀉心湯具有改善內毒素脂多醣體(Lipopolysaccharides, LPS)所造成的發炎反應，以及對大鼠引起之低血壓及細胞激素釋放之作用，文獻發現其機轉有二，藉由抑制 iNOS 及 COX-2 之表現且增加 HO-1 的表現，以及抑制細胞激素及 PGE2 的產生，因而產生抗發炎及免疫調節的作用。可作為未來中西醫在整合治療敗血症時的參考依據⁽⁵⁰⁾，另有文章指出三黃瀉心湯用於治療內毒素引發之低血壓及肺部傷害等疾病，發現三黃瀉心湯在抑制發炎物質 TGF- β 及 ICAM-1 的作用及肺

水腫的治療上比類固醇有更優異的治療效果。另文中提及三黃瀉心湯其抗發炎機制是透過抑制 p38 MAP kinase 產生的發炎路徑，減少其下游路徑所產生的發炎物質而達到抗發炎的效果⁽⁵¹⁻⁵³⁾。

(3)其它

有學者指出三黃瀉心湯及其相關組成之具有抗癌和抗病毒活性⁽⁵⁴⁾。亦有研究發現三黃瀉心湯具有對抗*Helicobacter. pylori*引發胃上皮細胞的發炎反應並且具有胃部保護的作用⁽⁵⁵⁾。而三黃瀉心湯與三黃片對金黄色葡萄菌、大腸桿菌均有抑菌作用⁽⁵⁶⁾；且有文獻報導三黃製劑具有使胃部肌肉鬆弛的作用⁽⁵⁷⁾。

三、三黃瀉心湯藥物動力學探討

由已發表的文獻中發現三黃瀉心湯口服後指標成分 baicalin、berberine 及 emodin 之生體可用率分別為 21.17、6.54 及 2.79% ，可知其生體可用率很低⁽³³⁾。在中西藥物併用研究，發現併服三黃瀉心湯會導致環孢靈之血中濃度顯著降低，然而，當環孢靈改以靜脈注射，併服三黃瀉心湯時，對其動力學並無顯著影響，研究人員推測其交互作用主要發生於吸收部位的不同所導致。建議為了確保環孢靈之用藥安全及療效，應避免與三黃瀉心湯及其組成的中藥併服⁽³⁵⁾。根據人體實

驗之研究發現口服濃縮散劑後，baicalein 的生體可用率明顯優於水煎劑，而 aloe-emodin、wogonin、rhein、emodin 與 chrysophanol 六種指標成分則是以水煎劑較佳，在動物實驗發現水煎劑有顯著抑制溶血的現象及抗自由基誘導脂質過氧化情形⁽³⁶⁾。



第五節 三黃瀉心湯活性成分的性質

1. Baicalin(黃芩苷)

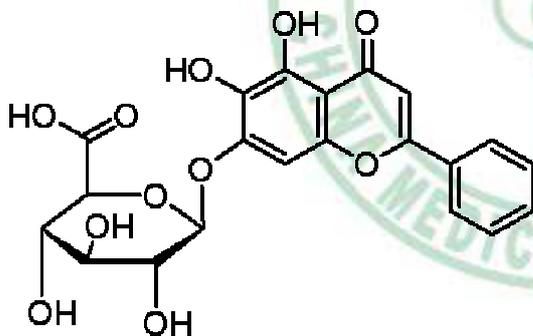
化學名

5,6-Dihydroxy-4-oxe-2-phenyl-4H-1-benzopyran-7- β
-D-glucopyranosiduronic acid

分子式 $C_{21}H_{18}O_{11}$

分子量 446.3

結構式



物化性質

熔點為 223~225°C(甲醇再結晶得到淡黃色細結晶)。UV λ_{\max} : 242、271、310 nm。幾乎不溶於水，難溶於丙酮、甲醇、乙醇，與醋酸鉛作用會產生橙紅色沉澱，與三氯化鐵作用呈現綠色⁽⁵⁸⁾。

藥理作用

具有抗菌、抗癌、利尿、降壓、利膽與抗發炎等作用⁽⁵⁹⁻⁶²⁾

2. Berberine(小蘗鹼)

化學名

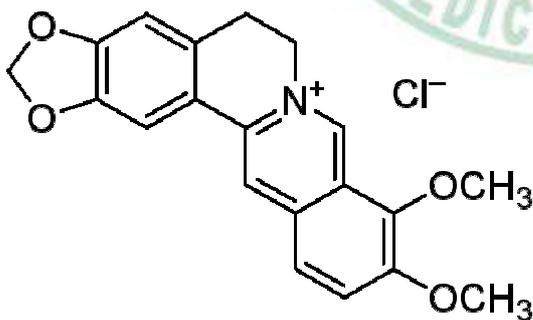
5,6-Dihydroxy-9,10-dimethoxybenzo[g]-1,3-benzodioxolo-
[5,6-a]quinolizinium

7,8,13-13a-tetrahydro-9,10-dimethoxy-2,3(methylene-
dioxy)berbinium

分子式 $[C_{20}H_{18}NO_4]^+$

分子量 336.37

結構式⁽⁶³⁾



物化性質

黃色針狀結晶(乙醚再結晶)，熔點 145°C。UV λ_{\max} : 265、243、310
nm。微溶於丙酮、乙醚、苯、氯仿，易溶於熱水⁽⁵⁸⁾。

藥理作用

具有降壓、抗菌、利膽、降血脂、抗腹瀉及抗炎、對膀胱、腸胃道、支氣管、子宮有興奮及抗腫瘤等作用^(59,64,65)。

3. Palmatine(棕柎鹼)

化學名

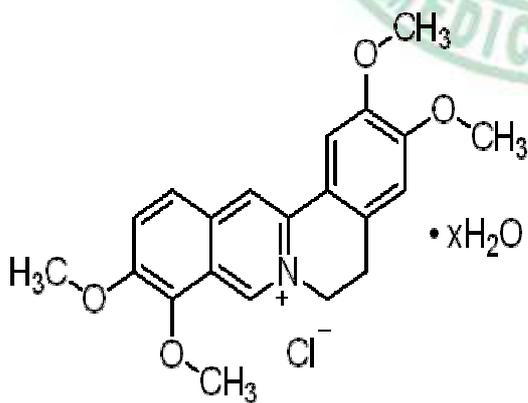
5,6-Dihydroxy-2,3,9,10-tetramethoxydibenzo[a-g] quinolizinium

7,8,13-13a-tetrahydro-2,3,9,10-tetramethoxyberberinium

分子式 $[\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{NO}_4]^+$

分子量 352.42

結構式⁽⁶³⁾



物化性質

黃色結晶，在丙酮與氯仿溶液中會轉變成 berberine，熔點 230°C 以上。UV λ_{max} ：226、348、274 nm。易溶於熱水、乙醇⁽⁵⁸⁾。

藥理作用

具有縮小心肌梗塞範圍、抗心律不整、抗菌、止痛等作用^(58,65)。

4. Wogonin(漢黃芩素)

化學名

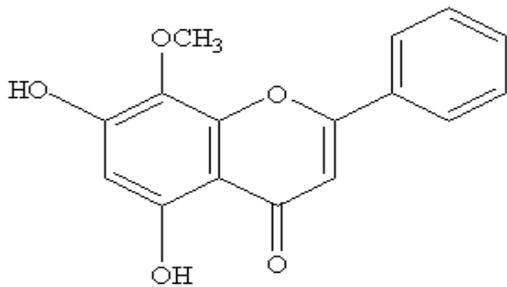
5,7-Dihydroxy-8-methoxy-2-phenyl-4H-1-benzopyran-4-one

5,7-Dihydroxy-8-methoxyflavone

分子式 $C_{16}H_{12}O_5$

分子量 284.26

結構式



物化性質

黃色針狀結晶，熔點 203°C 。UV λ_{max} :249、278、320 nm。可溶於

甲醇、乙醇、丙酮、醋酸、乙酸乙酯及氯仿，微溶於苯及水，不溶於

石油醚與二硫化碳⁽⁵⁷⁾。

藥理作用

具有解痙、利尿、抗菌、降低三酸甘油酯等作用^(59,67)。

5. Chrysophanol(大黃酚)

化學名

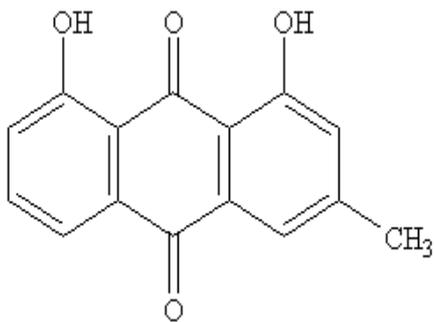
1,8-Dihydroxy-3-methyl-9,10-anthracenedione

1,8-Dihydroxy-3-methylanthrquinone

分子式 $C_{15}H_{10}O_4$

分子量 254.24

結構式



物化性質

單斜或六角形的晶體(苯或乙醇再結晶)，熔點 196°C，UV λ_{\max} : 226、256、278，288，436 nm。不溶於水，微溶於乙醇，可溶於苯、乙醚、丙酮、冰醋酸與氯仿，極微溶於石油醚⁽⁵⁸⁾。

藥理作用

具有止咳、抗菌、縮短血液凝固時間、利尿等作用⁽⁵⁹⁾

6. Baicalein(黃芩苷元)

化學名

5,6,7-Trihydroxyflavone

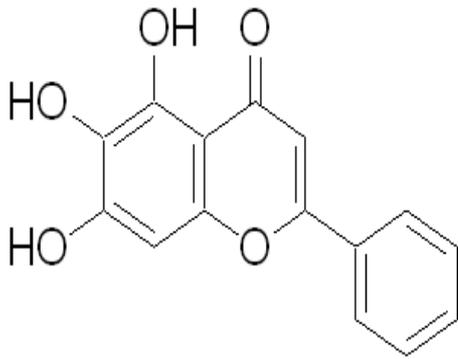
5,6,7-Trihydroxy-2—4H-1-benzopyran-4-one

分子式 $C_{15}H_{10}O_5$

分子量 270.24

結構式





物化性質

熔點為 264~265°C(乙醇再結晶得到淡黃色柱狀結晶)。UV λ_{\max} (乙醇)：324 及 276 nm。幾乎不溶於水，但可溶於甲醇、丙酮、乙醇、乙酸乙酯、乙醚與熱冰醋酸，略溶於氯仿及硝基苯，在稀氫氧化鈉溶液呈綠棕色，遇濃硫酸呈黃色並顯現綠色螢光，在光及熱的狀態被氧化成綠色的醌類衍生物⁽⁵⁸⁾。

藥理作用

具有抗菌、抗癌、利尿、降膽固醇、利膽與抗發炎等作用⁽⁵⁹⁾⁽⁶⁷⁾。

第三章 研究材料與方法

第一節 研究材料

一、中藥材

本實驗所使用之中藥材為大黃、黃芩、黃連藥材依醫宗金鑑組成比例 2:1:1 組合購自聯合中西藥局，經中藥資源系系郭昭麟主任進行生藥學組織鑑定，奈米化製程開發由中興大學王國禎教授與台茂科技公司協助進行。

二、藥品與試劑

小蘗鹼(Berberine hydrochloride)98%	Sigma Chemical Co.
黃芩苷(Baicalin)95%	Sigma Chemical Co.
黃芩苷元(Baicalein)98%	Sigma Chemical Co.
引朵乙胺(Indomethacin)99%	Sigma Chemical Co.
磷酸(Phosphoric acid)85%	Sigma Chemical Co.
棕梠鹼(Palmatine)99%	Wako
漢黃芩素(Wogonin) 98%	Wako
大黃酚(Chrysophanol) 98%	LKT Laboratories Inc.
三黃瀉心湯濃縮製劑	GMP 藥廠提供
氰甲烷(Acetonitril LC grade)	J.T.Baker
甲醇(Methanol)	ALPS. Chem.Co.
去離子水	

*使用於高效液相層析儀之試劑為 HPLC 級

三、儀器與材料

1. 高效液相層析儀

幫浦 (Pump)	Perkin Elmer series 200
偵測器 (Detector)	Perkin Elmer 785A
積分軟體	TC4 Navigator
自動取樣儀 (Autosampler)	Perkin Elmer USA
印表機 (Printer)	Epson Stylus color 800
層析管(Column)	XBridge C18, 3.5 μm , 15 cm x 4.6mm
保護管柱(Pre-column)	XBridge C18, 5 μm , 20 mm x 4.6 mm

2. 裝備

電子天平	Mettler Toledo AE240
微量吸管尖(20-200 μL 100-1000 μL)	
試管振盪器	MaxiMix II Thermolyne Type 37600 Mixer
純水製造裝置	RiOs, TK-5/ZROS6016, Millipore CO. and Milli-Q, FM-120D/ ZMQS600 Millipore Co.
超音波振盪器	POWER SONIC410 ,HWA SHIN Co.
過濾膜	Millipore Type HV, 0.45 μm , 13mm Millipore Co. Millipore Type HV, 0.22 μm , 13mm Millipore Co.
紫外光/可見光分光光譜儀	Shimadzu UV-1700

離子覆膜機	Ion sputter JFC-1100E,JEOL
掃描式電子顯微鏡	Scanning Microscope JSM-5400
吹氮氣濃縮裝置	Eyela Dry Thermo Bath MG-2000
高速離心機	Hermle L233 M-2
酸鹼測定儀(pH meter)	Microprocessor pH meter SP-2200, Suntex
傅立葉轉換式紅外光光譜儀	Fourier Transform Infrared Spectrophotometer IRprestige-21 Shimadzu



第二節 實驗方法

奈米化與傳統方劑三黃瀉心湯之指標成分比較分析研究

1. 粒徑分析

以量尺與穿透式、掃描式電子顯微鏡觀察及測量三黃瀉心湯粒徑大小。

2. 紅外光光譜分析

以 KBr 粉末作為打錠稀釋劑；單位為波數(cm^{-1})，分析比較標準品與奈米化三黃瀉心湯、濃縮方劑、奈米化濃縮方劑三種粒徑之紅外光光譜，比較奈米化前後結構是否發生變化。

3. 紫外光光譜分析

標準品和樣品定容在甲醇中分別測定其紫外吸收光譜圖，各指標成分共同吸收波長以 276 nm 為測定波長。

4. 三黃瀉心湯標準品分離度(Resolution)

層析的分離效果一般是以分離度(Resolution)來評估，R 越大表示分離度越佳，一個好的層析結果分離度 R 值應在 1.5 以上，公式如下：

$$R = \frac{t_2 - t_1}{1/2(tw_1 + tw_2)}$$

$t_2 - t_1$ ：兩個尖峰之間的距離

$1/2(tw_1 + tw_2)$ ：兩個尖峰寬度和的一半

5. HPLC 分析條件

層析管(Column)	XBridge C18 (3.5 μ m, 15 cm x 4.6 mm)
保護管柱(Pre-column)	XBridge C18 (5 μ m, 20 mm x 4.6 mm)
檢測波長	UV 276 nm
流速	0.6 mL/min
移動相	A :ACN B : 0.11% H ₃ PO ₄ Solution(pH=2.04)

梯度分析之程式為:

時間(分)	A(%)	B(%)
0	15	85
15	20	80
50	55	45
60	90	10
65	90	10

注入量 10 μ L

分析時間 65 min

6. 配製標準品溶液

精秤 baicalin、baicalein、wogonin、berberine、palmatine、chrysophanol 等各 1.0 mg 標準品，溶於甲醇定容至 10.0 mL，超音波振盪後，作為標準品儲備母液(0.1 mg/mL)。

7. 配製內部標準品溶液

精秤 2.5 mg 的 indomethacin 標準品，溶於甲醇，定容至 25 mL，超音波振盪後，作為內部標準品儲備母液(0.1 mg/mL)。

8. 三黃瀉心湯飲片甲醇溶液的配製

精確秤取三黃瀉心湯方劑原藥藥材大黃 1 克、黃芩 0.5 克、黃連 0.5 克，加入甲醇 20 mL，超音波震盪 20 分鐘，殘渣再加入 20 mL 甲醇後超音波震盪，合併兩次溶液，離心取上清液後以濾紙過濾，以甲醇定容至 50 mL 製成儲備檢品溶液，取作為定量之檢液。

9. 不同粒徑三黃瀉心湯檢品甲醇溶液的配製

不同粒徑三黃瀉心湯粉末檢品各 2 克樣品，加入甲醇 20 mL，超音波震盪 20 分鐘，殘渣再加入 20 mL 甲醇後超音波震盪，合併兩次溶液，離心取上清液後以濾紙過濾，以甲醇定容至 50 mL 製成儲備檢品溶液，作為定量之檢液。

10.三黃瀉心湯飲片水萃溶液的配製

精確秤取三黃瀉心湯方劑原藥藥材大黃 1 克、黃芩 0.5 克、黃連 0.5 克，加入去離子水 20 mL，超音波震盪 20 分鐘，殘渣再加入 20 mL 去離子水後超音波震盪，合併兩次溶液，離心取上清液後以濾紙過濾，以去離子水定容至 50 mL 製成儲備檢品溶液，作為定量之檢液。

11.不同粒徑之三黃瀉心湯檢品水萃溶液的配製

精秤不同粒徑三黃瀉心湯檢品粉末各 2 克樣品，加入去離子水 20 mL，超音波震盪 20 分鐘，殘渣再加入 20 mL 去離子水後超音波震盪震盪，合併兩次溶液，離心後取上清液後用濾紙過濾，以去離子水定容至 50 mL 製成儲備檢品溶液，作為定量之檢液。

12.三黃瀉心湯飲片水煎溶液的配製

精確秤取三黃瀉心湯方劑原藥藥材大黃 1 克、黃芩 0.5 克、黃連 0.5 克，加入去離子水 20 mL，浸泡 30 分鐘，直火加熱 20 分鐘後，殘渣再加入 20 mL 去離子水繼續加熱，重複兩次合併溶液；高速離心取上清液以濾紙過濾，定容至 50 mL 製成貯備檢品溶液，作為定量之檢液。

13.不同粒徑之三黃瀉心湯檢品水煎溶液的配製

精確稱取不同粒徑三黃瀉心湯方劑粉末檢品 2 克，加入去離子水 20 mL，浸泡 30 分鐘，直火加熱 20 分鐘後過濾，殘渣再加入 20 mL 去離子水繼續加熱，重複兩次合併溶液；溶液離心取上清液，以濾紙過濾定容至 50 mL 製成儲備檢品溶液，作為定量之檢液。

14.檢品溶液之前處理

(1)奈米化與非奈米化檢品甲醇萃取之檢品溶液

精取奈米化檢品與非奈米化甲醇儲備檢品溶液 0.5 mL 置於 10 mL 之容量瓶以甲醇定容至 10 mL，經 0.22 μm 過濾膜過濾，精取過濾之稀釋檢品 200 μL ，加入 200 μL indomethacin 內標準品(0.1 mg/mL)，以振盪器振搖 30 秒，混合均勻。以 HPLC 分析，每一檢品三重覆測定。(n=3)

(2)水萃及水煎之檢品溶液

精取不同粒徑之檢品溶液 2 mL 以 12000 轉高速離心，經 0.22 μm 過濾膜過濾，精取過濾之檢品 200 μL ，加入 200 μL indomethacin 內標準品(0.1 mg/mL)，以振盪器振搖 30 秒，混合

均勻。以 HPLC 分析之，每一檢品三重覆測定。(n=3)



15.檢量線製作

以微量吸管(micropipet)精確量取適量之 baicalin、baicalein、wogonin、berberine、palmatine、chrysophanol 標準溶液(0.1mg/mL)，分別加適量甲醇稀釋成濃度為 3.125 $\mu\text{g/mL}$ 、6.25 $\mu\text{g/mL}$ 、12.5 $\mu\text{g/mL}$ 、25 $\mu\text{g/mL}$ 、50 $\mu\text{g/mL}$ 、100 $\mu\text{g/mL}$ (即以甲醇稀釋 32 倍、16 倍、8 倍、4 倍、2 倍)的標準溶液，各取 200 μL 不同濃度的標準溶液，加入 200 μL indomethacin 內標準品(0.1 mg/mL)，以振盪器振搖 30 秒，混合均勻。以 HPLC 分析之。由所得的標準品 baicalin、baicalein、wogonin、berberine、palmatine、chrysophanol 與內標準品 indomethacin 之面積比(peak area ratio)和標準品濃度作線性迴歸以製作檢量線。

16.分析方法之確效

(1)精密度(Precision)

為了確認 baicalin、baicalein、wogonin、berberine、palmatine、chrysophanol 定量分析方法之精確性，所以作同日內(intraday)和間日內(interday)的精確性比較。

(i)同日內(intraday)試驗：

同日內個別精確量取 200 μL 不同濃度含 baicalin、

baicalein、wogonin、berberine、palmatine、chrysophanol (6.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)之標準溶液，再分別各加入 200 μL indomethacin 內標準品(0.1 mg/mL)，振搖 30 秒，混合均勻。分別於同日內早、午、晚以 HPLC 各測定三次，來評估本分析法之同日變異性。計算各個校正濃度之相對標準偏差(R.S.D.)。

(ii)間日內(interday)試驗：

於不同天以同日內(intraday)試驗方法操作，即可得到間日內(interday)的精確性比較。

於不同日個別精確量取 200 μL 含不同濃度 baicalin、baicalein、wogonin、berberine、palmatine、chrysophanol (6.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)之標準溶液，再分別各加入 200 μL 內標 indomethacin 標準品，振搖 30 秒，混合均勻。分別於同日內早、午、晚以 HPLC 各測定三次，來評估本分析法之異日變異性。計算各個校正濃度之相對標準偏差(R.S.D.)。

(2)準確度(Accuracy)

三次同日及三次異日間，實驗濃度的平均值與理論濃度

值之相對誤差(relative error)。

17.最低檢測濃度 LOD (Limit of Detection)偵測極限

機器所能測得之樣本 baicalin、baicalein、wogonin、berberine、palmatine、chrysophanol 最低極限濃度。為樣本 peak 高度(signal)小於或等於雜訊(noise) peak 高度之 3 倍謂之。

取檢量線含 baicalin、baicalein、wogonin、berberine、palmatine、chrysophanol 最小標準濃度 3.125 $\mu\text{g/mL}$ (以甲醇稀釋 32 倍)為主,持續對半稀釋至如下濃度 1.562 $\mu\text{g/mL}$ 、0.781 $\mu\text{g/mL}$ 、0.391 $\mu\text{g/mL}$ 、0.195 $\mu\text{g/mL}$ 、0.0976 $\mu\text{g/mL}$ 、0.0488 $\mu\text{g/mL}$,各取 100 μL 不同濃度的標準溶液,以氮氣吹乾,加入 300 μL 甲醇,振搖 30 秒,混合均勻,再以 HPLC 測之。即測得指標成份之峰高(signal)與雜訊(noise)峰高,當 $\text{signal/noise} \geq 3$,此時 baicalin、baicalein、wogonin、berberine、palmatine、chrysophanol 之濃度極為 LOD。

18.最低定量濃度 LOQ(Limit of Quantitation)定量極限

機器所能定量樣本 baicalin、baicalein、wogonin、berberine、palmatine、chrysophanol 最低濃度謂之。為樣本 peak 高度(signal)小於或等於雜訊(noise) peak 高度之 10 倍謂之。

機器所能測得之樣本 baicalin、baicalein、wogonin、berberine、palmatine、chrysophanol 最低定量濃度。為樣本 peak 高度(signal)小於或等於雜訊(noise) peak 高度之 10 倍謂之。

取檢量線含 baicalin、baicalein、wogonin、berberine、palmatine、chrysophanol 最小標準濃度 3.125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (以甲醇稀釋 32 倍)為主,持續對半稀釋至如下濃度 1.562 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.781 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.391 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.195 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.0976 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.0488 $\mu\text{g}/\text{mL}$,各取 100 μL 不同濃度的標準溶液,以氮氣吹乾,加入 300 μL 甲醇,振搖 30 秒,混合均勻,再以 HPLC 測之。即測得指標成份之峰高(signal)與雜訊(noise)峰高,當 $\text{signal}/\text{noise} \geq 10$,此時 baicalin、baicalein、wogonin、berberine、palmatine、chrysophanol 之濃度極為 LOQ。

19.Recovery(回收率)

(1) 三黃瀉心湯奈米化原藥材甲醇溶液

選定三個已知濃度之 baicalin、baicalein、wogonin、berberine、palmatine、chrysophanol (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、25 $\mu\text{g}/\text{mL}$)標準溶液各 100 μL ，以氮氣吹乾，加入已知 baicalin、baicalein、wogonin、berberine、palmatine、chrysophanol 濃度之奈米化原藥材甲醇檢品各 200 μL ，以及內部標準品 indomethacin 200 μL ，振搖 30 秒，使混合均勻。如上三個樣本以 HPLC 各測三次(n=3)，經標準檢量線換算，求得 mean & 及 S.D.及 R.S.D.。

(2)三黃瀉心湯原藥材甲醇溶液

選定三個已知濃度之 baicalin、baicalein、wogonin、berberine、palmatine、chrysophanol (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、25 $\mu\text{g}/\text{mL}$)標準溶液各 100 μL ，以氮氣吹乾，加入已知 baicalin、baicalein、wogonin、berberine、palmatine、chrysophanol 濃度之原藥材甲醇方劑檢品各 200 μL ，以及內部標準品 indomethacin 200 μL ，振搖 30 秒，混合均勻。如上三個樣本以 HPLC 各測三次(n=3)，經標準檢量線換算，求得 mean 及 S.D. 及 R.S.D.。

(3)三黃瀉心湯原藥材粗粉甲醇溶液

選定三個已知濃度之 baicalin、baicalein、wogonin、berberine、
palmatine、chrysophanol (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、25 $\mu\text{g}/\text{mL}$)
標準溶液各 100 μL ，以氮氣吹乾，加入已知 baicalin、baicalein、
wogonin、berberine、palmatine、chrysophanol 濃度之原藥材粗粉
甲醇方劑檢品各 200 μL ，以及內部標準品 indomethacin 200 μL ，
振搖 30 秒，混合均勻。如上三個樣本以 HPLC 各測三次($n=3$)，
經標準檢量線換算，求得 mean 及 S.D. 及 R.S.D.。

(4)三黃瀉心湯奈米化濃縮方劑甲醇溶液

選定三個已知濃度之 baicalin、baicalein、wogonin、berberine、
palmatine、chrysophanol (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、25 $\mu\text{g}/\text{mL}$)
標準溶液各 100 μL ，以氮氣吹乾，加入已知 baicalin、baicalein、
wogonin、berberine、palmatine、chrysophanol 濃度之濃縮方劑甲
醇檢品各 200 μL ，以及內部標準品 indomethacin 200 μL ，振搖 30
秒，混合均勻。如上三個樣本以 HPLC 各測三次($n=3$)，經標準檢
量線換算，求得 mean 及 S.D. 及 R.S.D.。

(5)三黃瀉心湯濃縮方劑甲醇溶液

選定三個已知濃度之 baicalin、baicalein、wogonin、berberine、
palmatine、chrysophanol (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、25 $\mu\text{g}/\text{mL}$)
標準溶液各 100 μL ，以氮氣吹乾，加入已知 baicalin、baicalein、
wogonin、berberine、palmatine、chrysophanol 濃度之濃縮方劑甲
醇檢品各 200 μL ，以及內部標準品 indomethacin 200 μL ，振搖 30
秒，混合均勻。如上三個樣本以 HPLC 各測三次($n=3$)，經標準檢
量線換算，求得 mean 及 S.D. 及 R.S.D.。



第四章 結果與討論

第一節 結果

奈米化與傳統方劑三黃瀉心湯之指標成分比較分析研究

一、粒徑分析

表 5 三黃瀉心湯粒徑分析(1)

藥材	三黃瀉心湯 原藥材	三黃瀉心湯 粗粉*b	奈米化三黃 瀉心湯*a	三黃瀉心湯 奈米化濃縮 方劑*a	三黃瀉心湯 濃縮方劑*b
粒徑 範圍	3~5 cm	550 μm	150 nm	440 nm	328 μm

*a 2006.08 利用 TEM 測量(由中興大學測量)

*b 利用篩分析測量

表 6 三黃瀉心湯粒徑分析(2)

藥材	三黃瀉心湯 原藥材	三黃瀉心湯 粗粉*b	奈米化三 黃瀉心湯 *a	三黃瀉心湯 奈米化濃縮 方劑*a	三黃瀉心湯 濃縮方劑*b
粒徑 範圍	3~5 cm	500-1000 μm	5-10 μm	10-20 μm	300-400 μm

*c 2007.05 利用 SEM 測量

*d 2007.05 利用量尺測量

二、紅外光光譜分析

比較方劑含量較多的三種標準品 baicalin、baicalein、berberine

(圖 1-3)及奈米化三黃瀉心湯、奈米化濃縮方劑、濃縮方劑三個紅外光光譜圖(圖 4-6)，結果顯示奈米化前後結構並無發生劇烈變化，代表中藥材經奈米化後仍是呈現安定狀態。

三、三黃瀉心湯標準品分離度(Resolution)

baicalin 與 palmatine 分離度 $R=2.8$

palmatine 與 berberine 分離度 $R=1.6$

四、奈米化與非奈米化三黃瀉心湯指標成分液相層析含量測定

表 7 The regression equations, concentration range and correlation coefficient of constituents in SHSST

Constituents	Regression equations	Concentration Range($\mu\text{g/mL}$)	r
baicalin	$Y= 103.24x + 2.4358$	100~3.125	0.9991
baicalein	$Y=74.275+2.42$	100~3.125	0.999
wogonin	$Y= 48.615x - 0.0605$	100~3.125	0.9996
berberine	$Y=96.396x - 0.0823$	100~3.125	1.0000
palmatine	$Y = 54.676x + 0.0625$	100~3.125	0.9999
wogonin	$Y= 48.615x - 0.0605$	100~3.125	0.9996
chrysophanol	$Y= 108.29x + 0.239$	100~3.125	0.9996

表 8 The Limit of detection(LOD) and Limit of Quantitation(LOQ) of constituents in SHSST

Constituents	LOQ($\mu\text{g/mL}$)	LOD($\mu\text{g/mL}$)
baicalin	0.781	0.09
baicalein	3.125	1.562
wogonin	0.391	0.09
berberine	0.391	0.09
palmatine	0.195	0.09
chrysophanol	0.391	0.09

表 9 Intraday and interday analytical precisions and accuracy of three concentrations (6.25-100.0 $\mu\text{g/mL}$) of constituents in SHSST

Chemical compounds	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Intraday Accuracy (R.S.D.,% R.E.(%))	Interday Accuracy (R.S.D.,% R.E.(%))
baicalin	6.25	9.9 3.32	5.74 -1.69
	25	7.24 1.07	3.49 -5.83
	100.0	1.45 -0.38	1.99 -3.52
baicalein	6.25	1.57 -7.05	0.79 -6.16
	25	7.75 4.52	9.71 0.67
	100.0	0.5 -6.49	4.01 -3.57
wogonin	6.25	0.44 -0.64	0.27 -0.45
	25	0.12 2.14	0.09 1.89
	100.0	0.06 0.13	0.13 0.11
berberine	6.25	0.36 -1.95	0.39 -1.67
	25	0.08 0.96	0.07 0.72
	100.0	0.39 0.39	0.23 0.24
palmatine	6.25	0.39 5.09	0.25 5.53
	25	6.1 -2.14	0.47 1.48
	100.0	0.38 3.12	0.22 3.56
chrysophanol	6.25	4.04 2.11	0.30 3.91
	25	0.85 -0.4	2.97 2.08
	100.0	0.17 -2.87	0.08 -1.22

n=3

表 10 奈米化三黃瀉心湯六種指標成分在甲醇中的回收率

Chemical compound	Amount added (µg/mL)	Recovery (mean,n=3) (%)	Mean±S.D. (%)	R.S.D. (%)
baicalin	25.0	83.79	86.65±4.26	4.91
	50.0	91.55		
	100.0	84.61		
baicalein	25.0	119.2	120.29±1.41	1.17
	50.0	119.8		
	100.0	121.88		
wogonin	25.0	103.47	101.53±2.16	0.02
	50.0	99.30		
	100.0	100.39		
berberine	25.0	84.75	84.32±0.39	0.46
	50.0	84.00		
	100.0	84.22		
palmatine	25.0	94.27	90.43±3.36	0.03
	50.0	88.00		
	100.0	89.02		
chrysophanol	25.0	98.91	96.63±2.74	2.84
	50.0	97.41		
	100.0	93.58		

表 11 三黃瀉心湯指標成分含量(mg/g)

	溶 媒	奈米化	原藥材	粗粉	濃縮 方劑	奈米濃縮 中藥
Baicalin	甲 醇	12.25±0.07	1.71±0.02	5.95±1.17	15.29±0.18	18.48±0.05
	水 萃	0.11±0.00	0.45±0.00	0.28±0.02	19.50±0.04	23.12±0.08
	水 煎	7.28±0.05	1.57±0.01	4.08±0.03	11.57±0.04	15.84±0.31
Baicalein	甲 醇	6.72±0.02	1.77±0.03	7.08±0.08	1.55±0.02	1.63±0.01
	水 萃	2.17±0.01	0.16±0.01	1.16±0.01	0.14±0.01	0.14±0.01
	水 煎	0.96±0.01	0.19±0.00	0.33±0.00	0.17±0.00	0.29±0.01
Wogonin	甲 醇	1.28±0.02	0.32±0.02	1.37±0.01	0.33±0.01	0.46±0.01
	水 萃	0.29±0.03	0.03±0.00	0.14±0.00	0.14±0.01	0.49±0.01
	水 煎	0.11±0.00	0.02±0.00	0.03±0.00	0.06±0.01	0.07±0.01

表 12 三黃瀉心湯指標成分含量(mg/g)

		奈米化	原藥材	粗粉	濃縮	奈米濃縮
					方劑	中藥
Berberine	甲醇	2.68±0.03	1.79±0.09	1.71±0.00	2.28±0.08	2.71±0.01
	水萃	0.04±0.00	5.15±0.03	0.05±0.00	0.37±0.04	0.57±0.06
	水煎	2.07±0.03	0.39±0.00	0.07±0.00	0.31±0.00	0.27±0.12
Palmitine	甲醇	0.46±0.02	0.32±0.02	0.29±0.02	1.44±0.02	1.44±0.02
	水萃	0.19±0.00	0.97±0.01	0.02±0.00	0.19±0.03	0.23±0.03
	水煎	0.78±0.01	0.62±0.00	0.03±0.00	0.14±0.00	0.17±0.02
chryso-phenol	甲醇	0.70±0.03	0.25±0.02	0.64±0.02	0.31±0.01	0.31±0.01
	水萃	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	水煎	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

表 13 奈米化三黃瀉心湯醇萃指標成分含量比對表(mg/g)

瀉心湯	奈米化三黃 文獻 A ⁽³¹⁾			文獻 B ⁽³⁵⁾	
	baicalin	12.25	34.48	37.90	39.60
baicalein	6.72	7.10	4.20	6.40	0.4~24.7
wogonin	1.28	1.40	0.90	1.30	0.6~7.8
berberine	2.68	18.3	16.9	33.3	7.5~39.0
palmatine	0.46	5.2	6.0	9.9	3.0~11.7
chrysophanol	0.7	0.5	0.5	0.7	0.1~0.4

表 14 奈米化三黃瀉心湯與文獻水煎劑指標成分含量比對表(mg/g)

來源	奈米化三黃瀉心湯	文獻 C ⁽³⁴⁾
成分		
baicalin	7.28	3.06
baicalein	0.96	0.42
wogonin	0.11	0.14
berberine	2.07	1.43
palmatine	0.78	N.D.

表 15 三黃瀉心湯水煎劑指標成分 baicain 含變化表

	三黃瀉心 湯原藥材	三黃瀉心湯 粗粉	奈米化三黃 瀉心湯	三黃瀉心 湯奈米化 濃縮方劑	三黃瀉心 湯 濃縮方劑
含量 變化	↑	↑	↑	↓	↓

第二節 討論

奈米化與傳統方劑三黃瀉心湯之指標成分比較分析研究

如表 5 所示，黃芩、大黃、黃連、三種中藥組成之三黃瀉心湯經奈米化過程如所測粒徑約 150 nm，奈米化濃縮方劑粒徑約 440 nm，推測植物的細胞膜和細胞壁已完全被破碎，有效成分可以直接溶出。且其表面積變大，更有利藥物有效成分溶出，然而原藥材及其粗粉則因細胞膜和細胞壁大部分仍是完整的，有效成分的溶出必需經過擴散和滲透作用，因此溶出速率較慢。

由表 6 結果顯示三黃瀉心湯經奈米化處理後，隨著時間經歷越久，由電子顯微鏡發現粉末顆粒會產生團聚現象，建議可由製劑技術改善。

比較方劑含量較多的三種標準品 baicalin、baicalein、berberine (圖 1-3)及奈米化三黃瀉心湯、奈米化濃縮方劑、濃縮方劑三個紅外光光譜圖(圖 4-6)，結果顯示奈米化前後結構並無發生劇烈變化，代表中藥材經奈米化後仍是呈現安定狀態。

藉由比較分離率可知此分析方法中，三黃瀉心湯中指標成分 baicalin、palmatine、berberine 之間的分離率分別為 1.8 及 1.6，可推知分離狀況良好。

各指標成分標準品與內標之波峰面積比值與各指標成分濃度經線性迴歸所得之檢量線顯示，baicalin、baicalein、wogonin、berberine、palmatine、chrysophanol 於 6.125~100 $\mu\text{g/mL}$ 濃度間均有良好線性關係 ($r>0.999$)，如表 7 所示。

此分析方法之確效顯示，各指標成分同日及間日之標準偏差 (R.S.D) 以及回收率均在可接受之範圍內，結果見於表 9~ 表 10。

定量結果如表 11、12 在奈米化三黃瀉心湯醇萃溶液中指標成分 baicalin、baicalein、wogonin、berberine、palmatine、chrysophanol 含量每公克分別為 12.25 ± 0.07 mg、 6.72 ± 0.02 mg、 1.28 ± 0.02 mg、 2.68 ± 0.03 mg、 0.46 ± 0.02 mg、 0.70 ± 0.03 mg；水萃溶液中指標成分 baicalin、baicalein、wogonin、berberine、palmatine、含量每公克則有 0.11 ± 0.00 mg、 2.17 ± 0.01 mg、 0.29 ± 0.03 mg、 0.04 ± 0.00 mg、 0.19 ± 0.00 mg；水煎劑當中指標成分 baicalin、baicalein、wogonin、berberine、palmatine、含量每克則有 7.28 ± 0.05 mg、 0.96 ± 0.01 mg、 0.11 ± 0.00 mg、 2.07 ± 0.02 mg、 0.78 ± 0.01 mg；但是，chrysophanol 物化性質幾乎不溶於水，在奈米化原藥材經由水萃與水煎後所得含量無法偵測到。

由表 11 與 12 的數據得知，藥材經奈米化後，有效成分大多比市售方劑含量高許多，推測奈米化過程可使有效成分大幅釋出。

而三黃瀉心湯奈米化原藥材後，活性成分 berberin、baicalin、wogonin、chrysophanol 含量比較，醇萃的部分比水萃部分高出許多。

berberin 其物化性質易溶於熱水，比較五種粒徑水煎劑，奈米化原藥材水煎含量最高，其含量高於奈米化濃縮方劑。

在分析指標成分過程中觀察到原藥材經奈米化處理，粒徑變小，在過濾時易穿透濾紙，造成定量失誤，因此本實驗先行利用高速離心後，取上清液過濾定量較為準確。

在比對表11之水萃及水煎數據中發現，原藥材經奈米化，其 baicalein 的含量為 0.96 ± 0.01 mg/g 較濃縮方劑高1.4倍。推測為濃縮方劑在製造過程中經由加热的程序，baicalein 在高溫易遭受破壞。

比較表11奈米化三黃瀉心湯、原藥材及粗粉高溫與常溫萃取指標成分 baicalein 含量，結果顯示 baicalein 含量在奈米化三黃瀉心湯及粗粉急速減少，在奈米化三黃瀉心湯 baicalein 的含量由 2.17 ± 0.01 mg/g 減少至 0.96 ± 0.01 mg/g，而粗粉 baicalein 由 1.16 ± 0.01 mg/g 減少至 0.33 ± 0.00 mg/g，原藥材 baicalein 則由 0.16 ± 0.01 mg/g 增加至 0.19 ± 0.00 mg/g，推測當藥材粉碎的粒徑越小在高溫水溶液中，baicalein 較不安定，易遭受破壞。

此外，比較溫度對奈米化原藥材水萃影響的數據，同樣顯示

baicalein的含量 $2.17 \pm 0.01 \mu\text{g/g}$ 為水煎劑的含量2倍。可知baicalein在高溫下不安定。

由表 11 的數據，亦比對指標成分 baicalin 在奈米化三黃瀉心湯、原藥材及粗粉與常溫與高溫萃取的含量，顯示含量各別從 0.11 ± 0.00 、 1.81 ± 0.00 、 $0.28 \pm 0.02 \text{ mg/g}$ 增加至 7.28 ± 0.05 、 1.57 ± 0.01 、 $4.08 \pm 0.03 \text{ mg/g}$ ，而奈米化濃縮方劑、濃縮方劑含量分別由 23.12 ± 0.08 、 19.50 ± 0.04 減少至 15.84 ± 0.31 、 $11.57 \pm 0.04 \text{ mg/g}$ ，顯現三黃濃縮方劑再經高溫萃取會使 baicalin 遭受破壞或水解。數據亦顯示，各種粒徑的三黃瀉心湯在高溫萃取狀態下，wogonin 大多遭受破壞。

由表 13 與已知文獻比對，奈米化三黃瀉心湯中指標成分 baicalin、baicalein、wogonin、berberine、palmatine、chrysophanol 較部份市售濃縮方劑含量高，而在表 14 的奈米化原藥材水煎劑當中指標成分 baicalin、baicalein、berberine 含量亦比文獻數據高。可推測奈米化過程，可增加中藥材有效成分釋出。

根據結果推測，難溶性藥物如礦物類藥材如經奈米化處理後，其有效成分釋出亦會增加。

第五章 結論

- 一、本研究為第一次針對三黃瀉心湯不同粒徑之方劑作比較。
- 二、三黃瀉心湯經奈米過程，並無改變藥物指標成分結構。
- 三、本實驗液相層析分析方法靈敏度高且快速的，可作為定量三黃瀉心湯劑型或藥材之質量分析的方法。
- 四、結果可知，三黃瀉心湯原藥材經奈米化過程，其活性成分可大幅溶出，減少了製造過程中有效成分的損失，且過程中有效成分並無破壞，建議如有藥廠願意製作濃縮方劑時可由原藥材著手，減少水煎或以溶媒萃取及人力、電力耗費之時間。



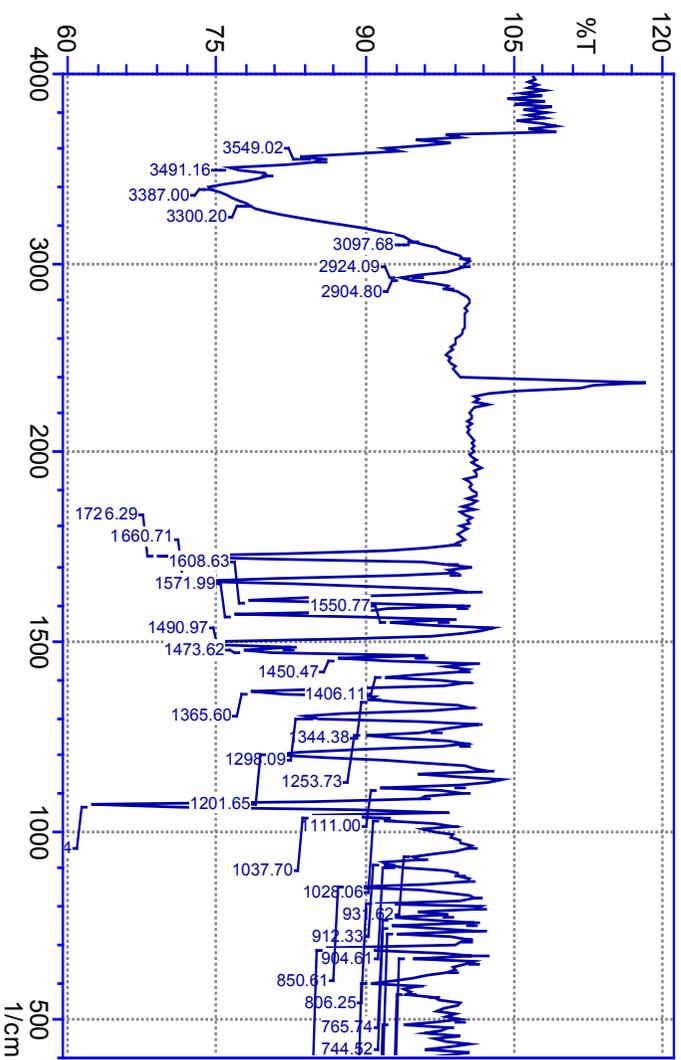


圖 1 baicalin 紅外光光譜圖

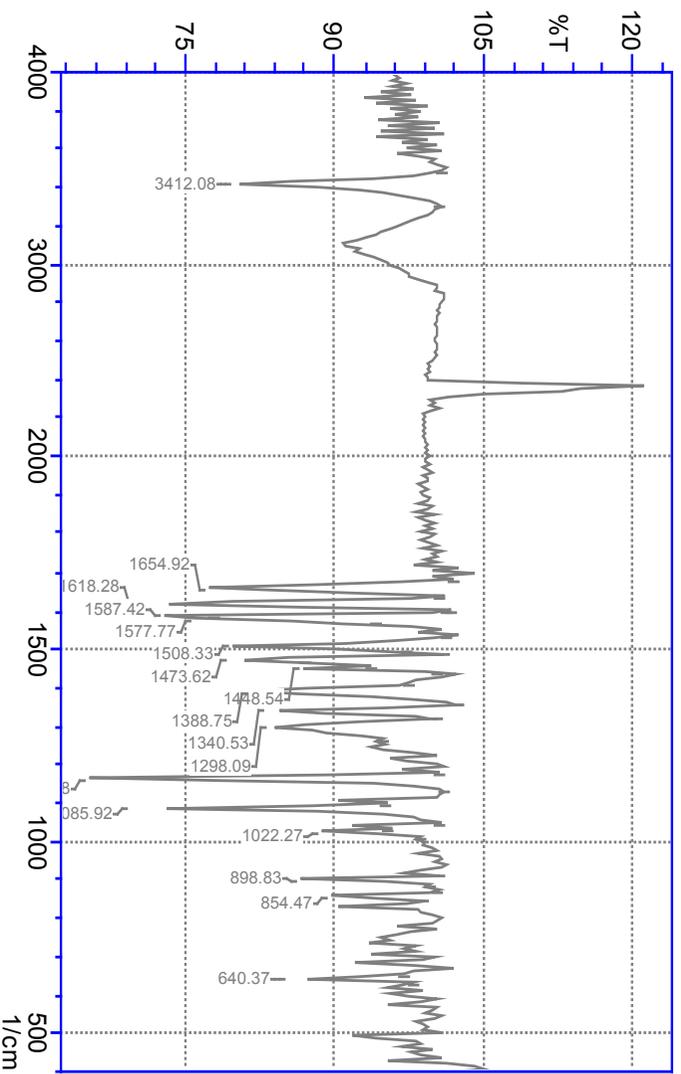


圖 2 baicalein 紅外光光譜圖

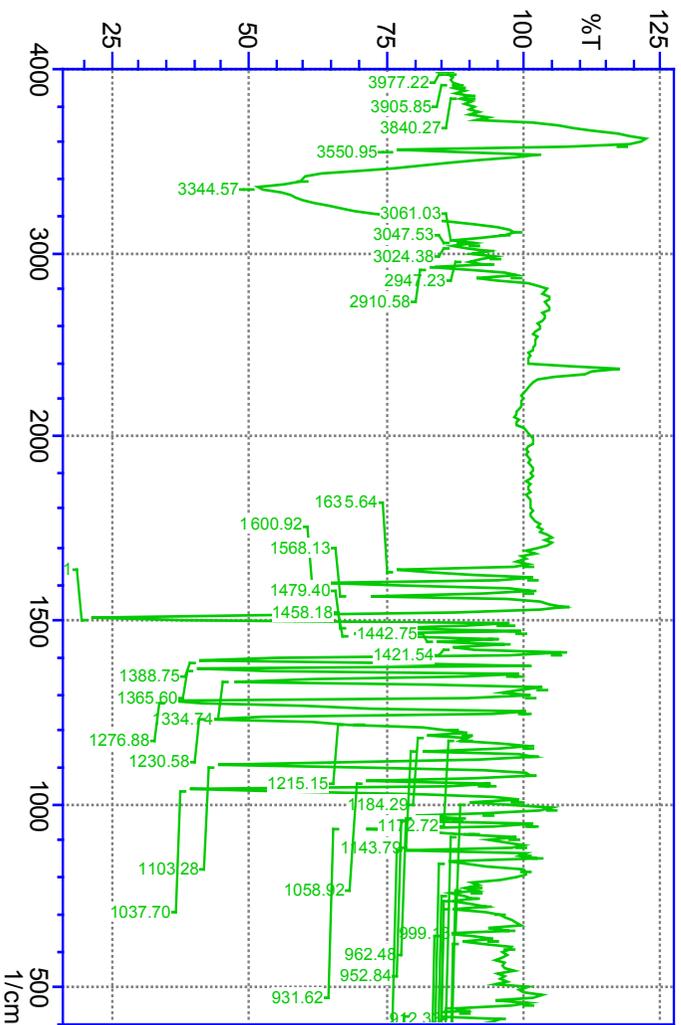


圖 3 berberine 紅外光光譜圖

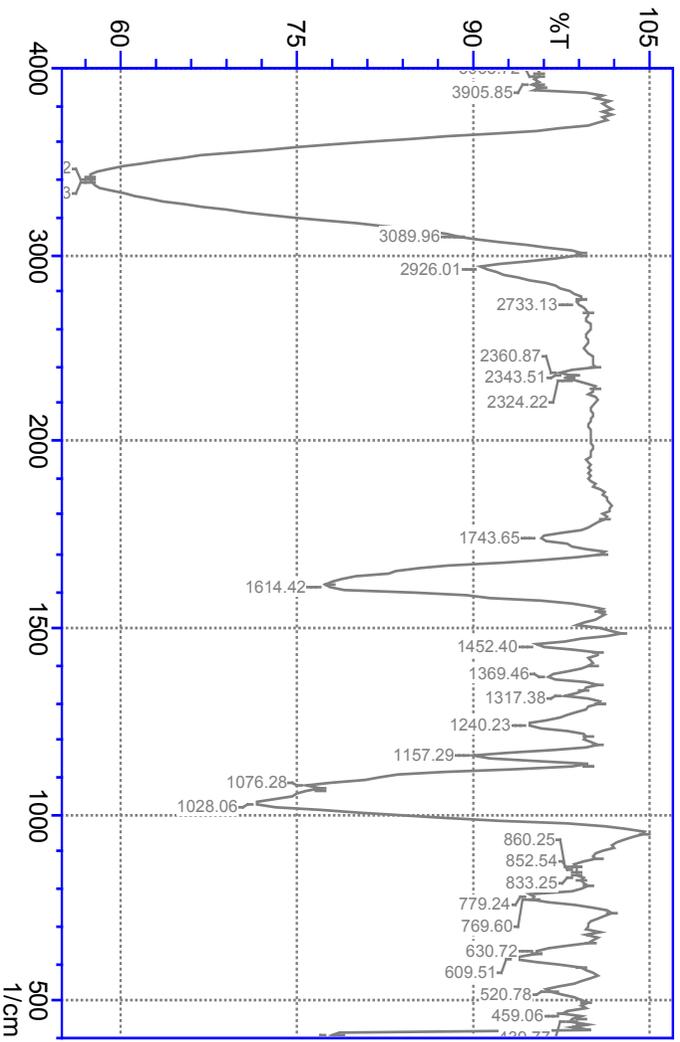


圖 4 三黃瀉心湯奈米化原藥材紅外光光譜圖

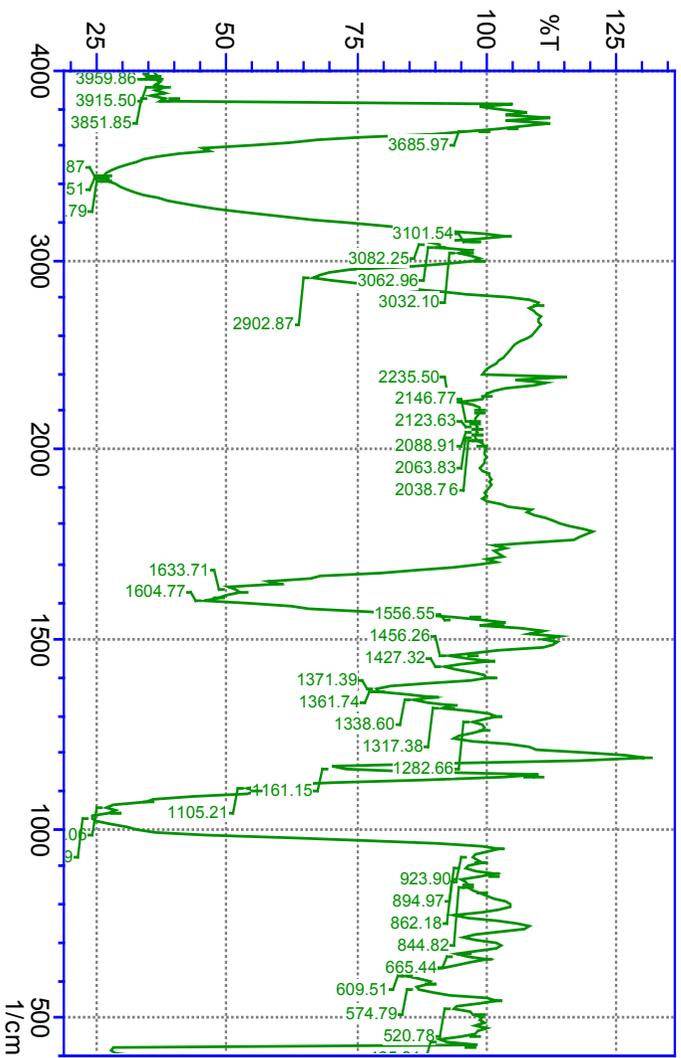


圖 5 三黃瀉心湯奈米濃縮中藥紅外光光譜圖

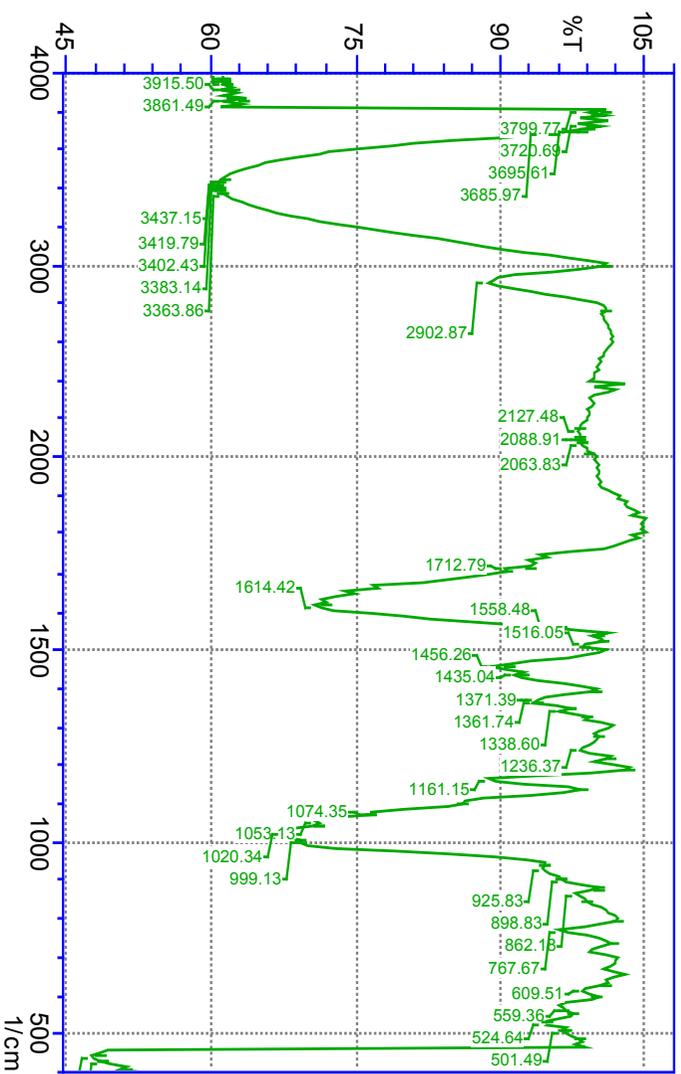


圖 6 三黃瀉心湯濃縮中藥紅外光光譜圖

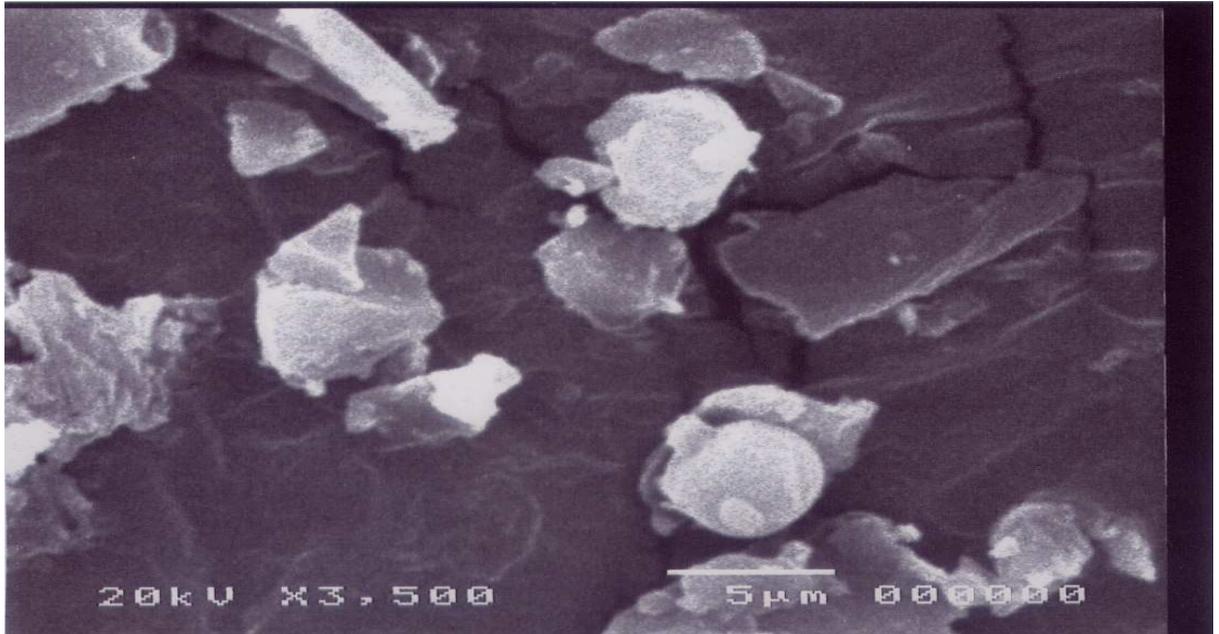


圖 7 三黃原奈米化藥材放大 3500 倍電顯圖(電子能量 20 kV)

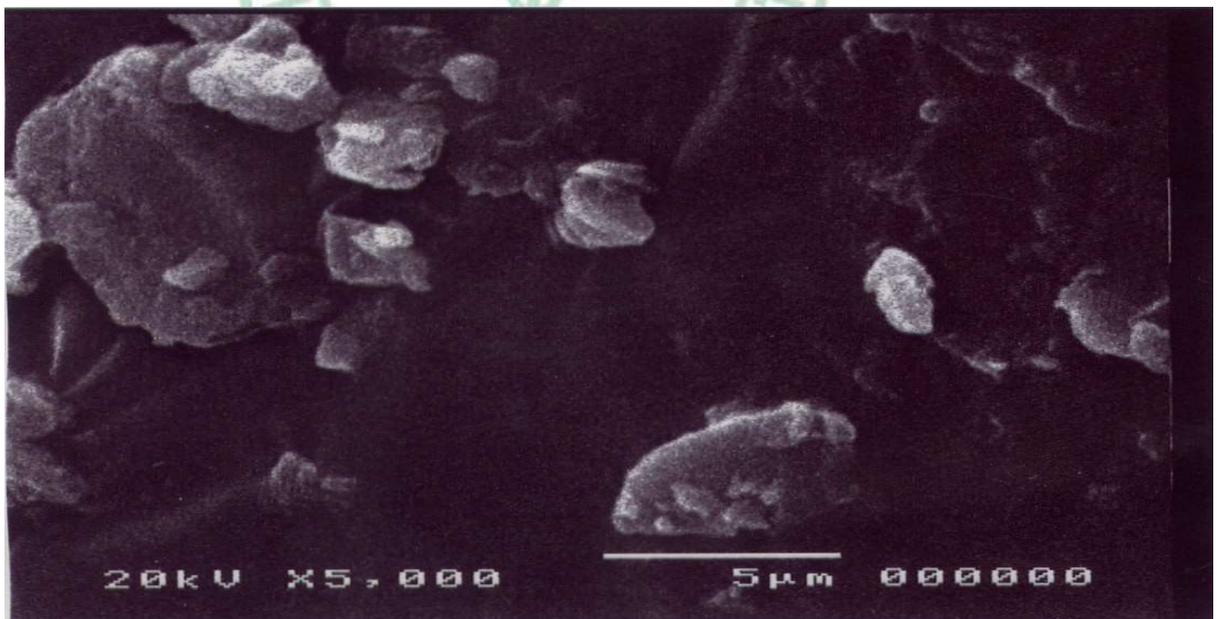


圖 8 三黃奈米化原藥材放大 5000 倍電顯圖(電子能量 20 kV)

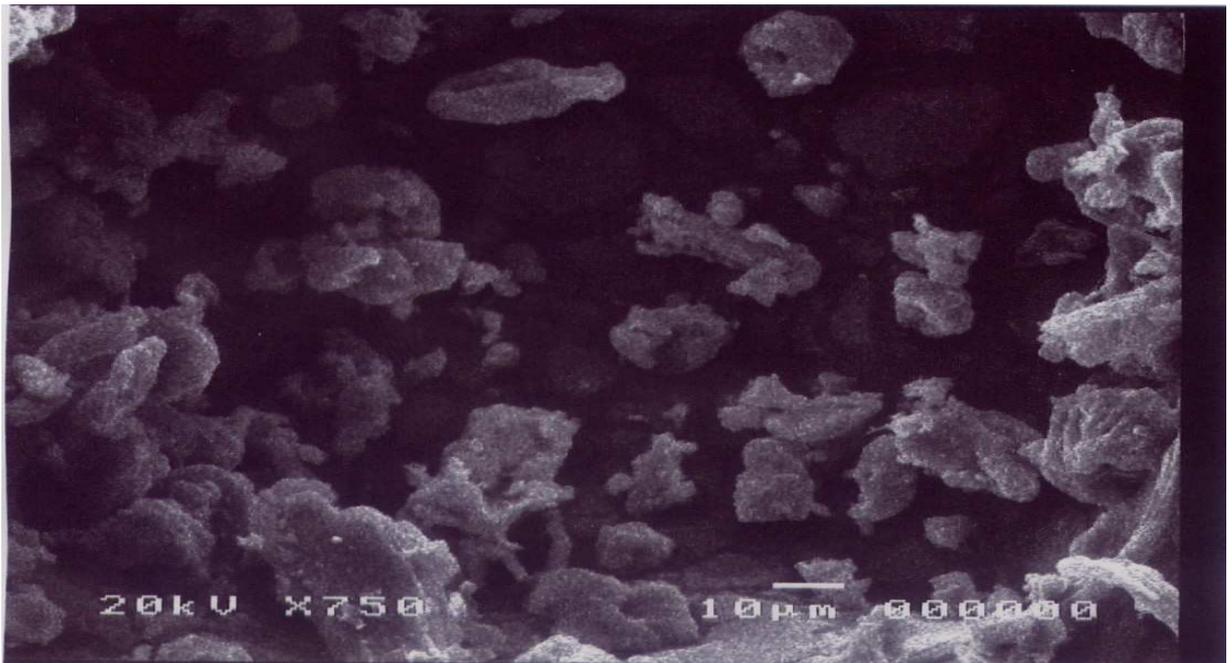


圖 9 三黃奈米化濃縮中藥放大 750 倍電顯圖(電子能量 20 kV)

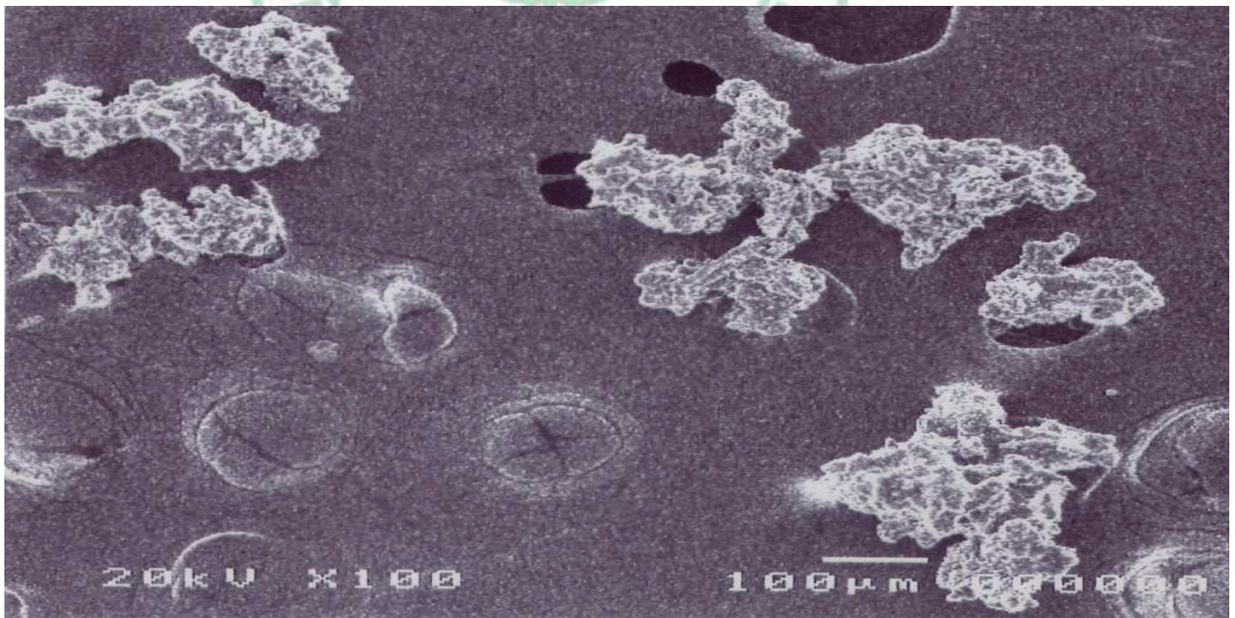


圖 10 三黃濃縮中藥放大 100 倍電顯圖(電子能量 20 kV)

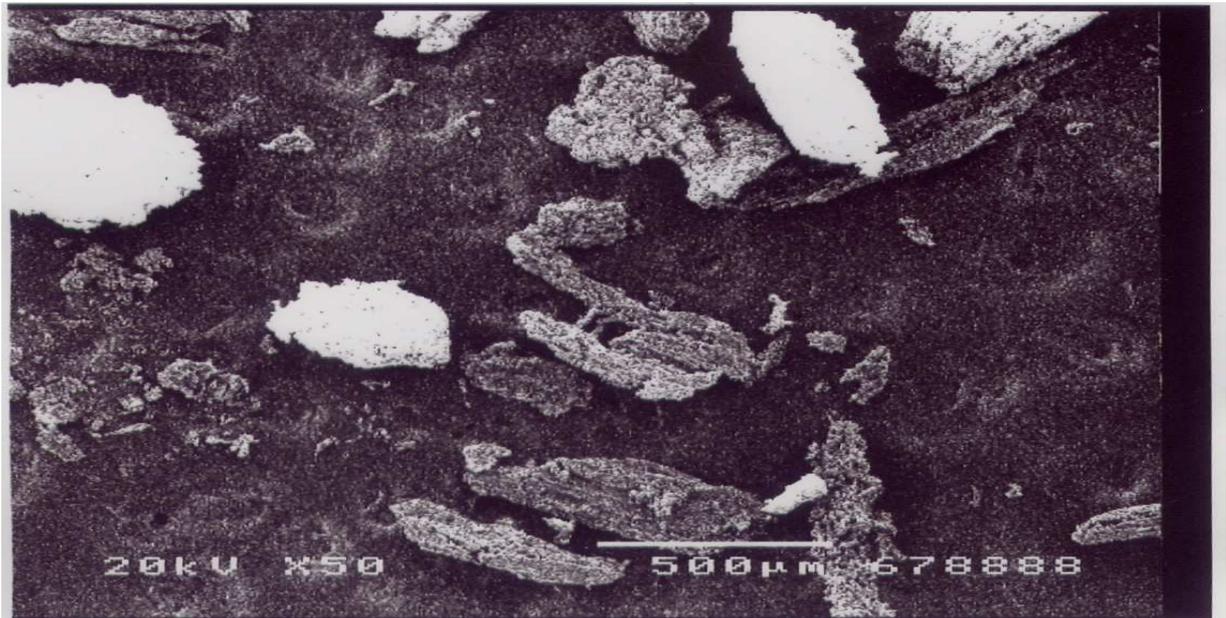


圖 11 黃芩粗粉放大 50 倍電顯圖(電子能量 20 kV)

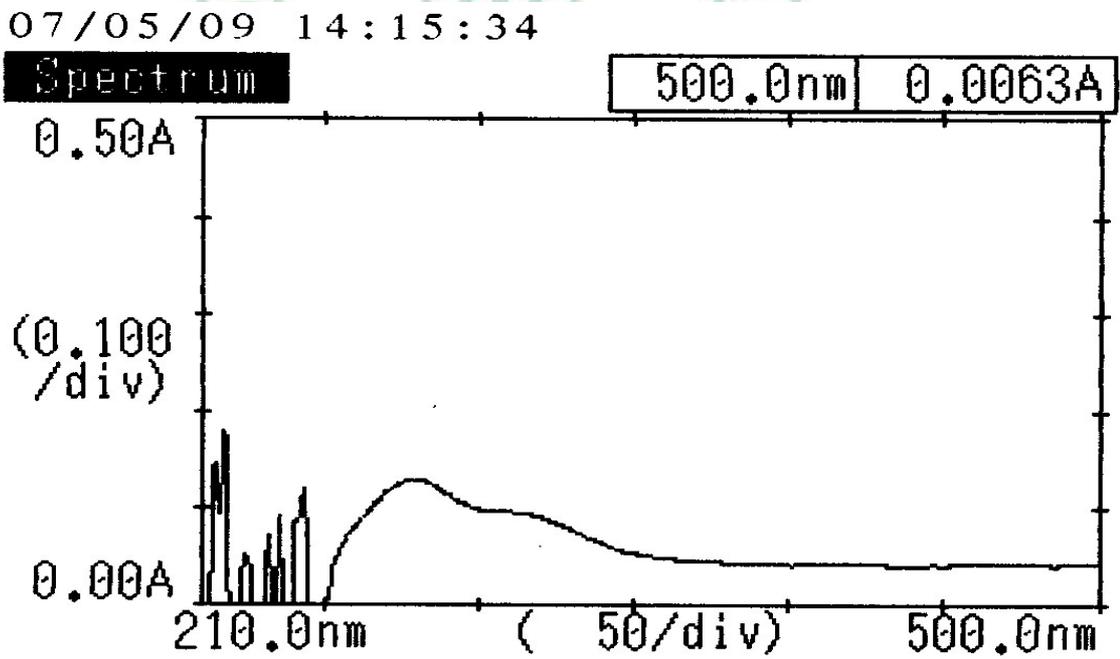


圖 12 UV spectrum of baicalin

07/05/09 14:06:50

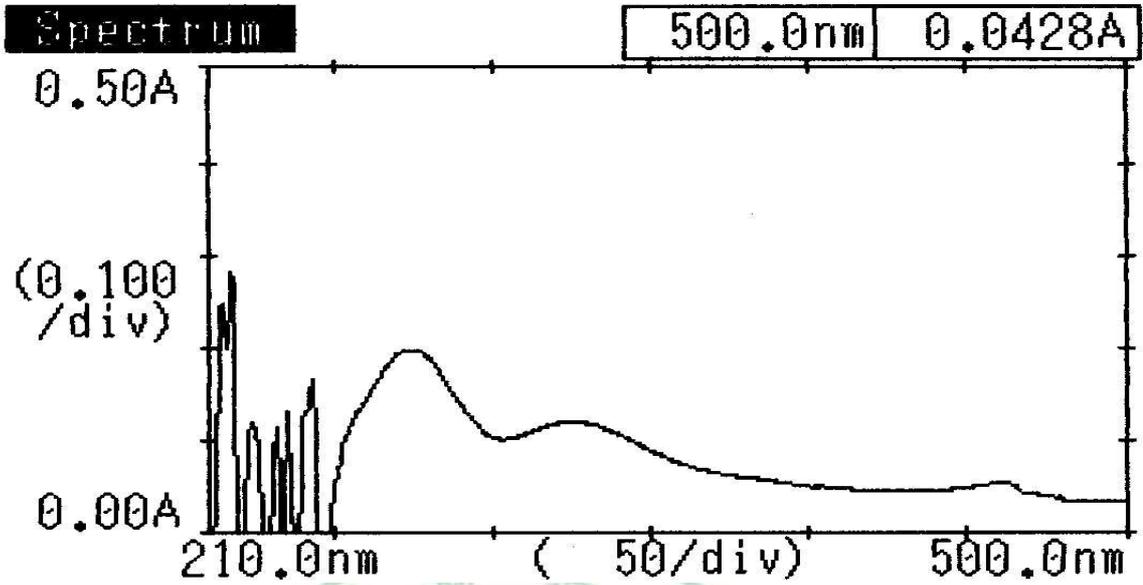


圖 13 UV spectrum of baicalin

07/05/09 14:20:09

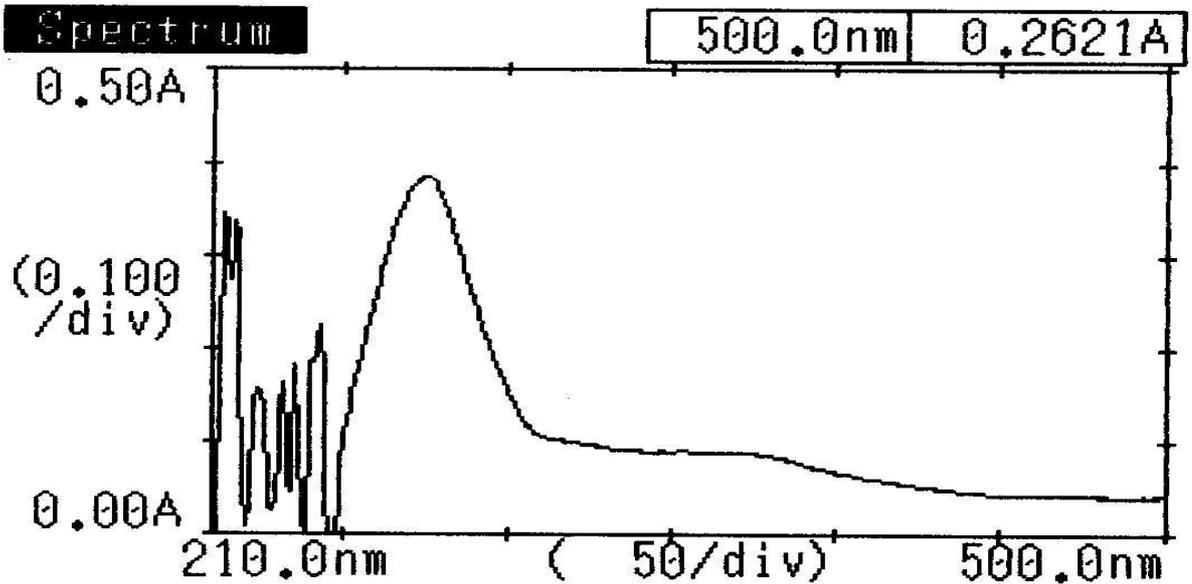


圖 14 UV spectrum of wogonin

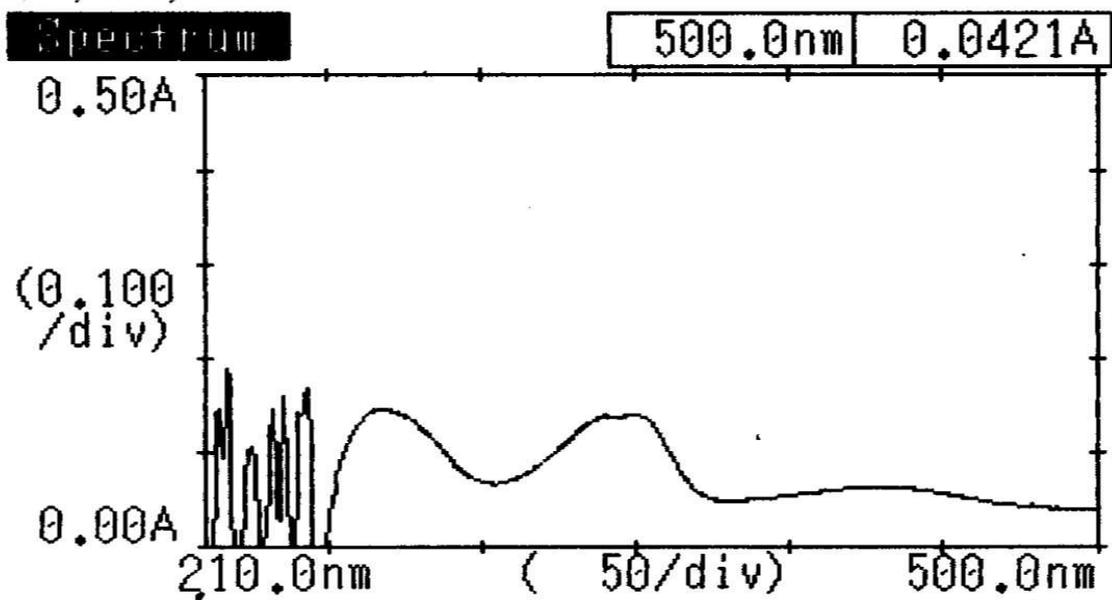


圖 15 UV spectrum of berberine

07/05/09 14:00:58

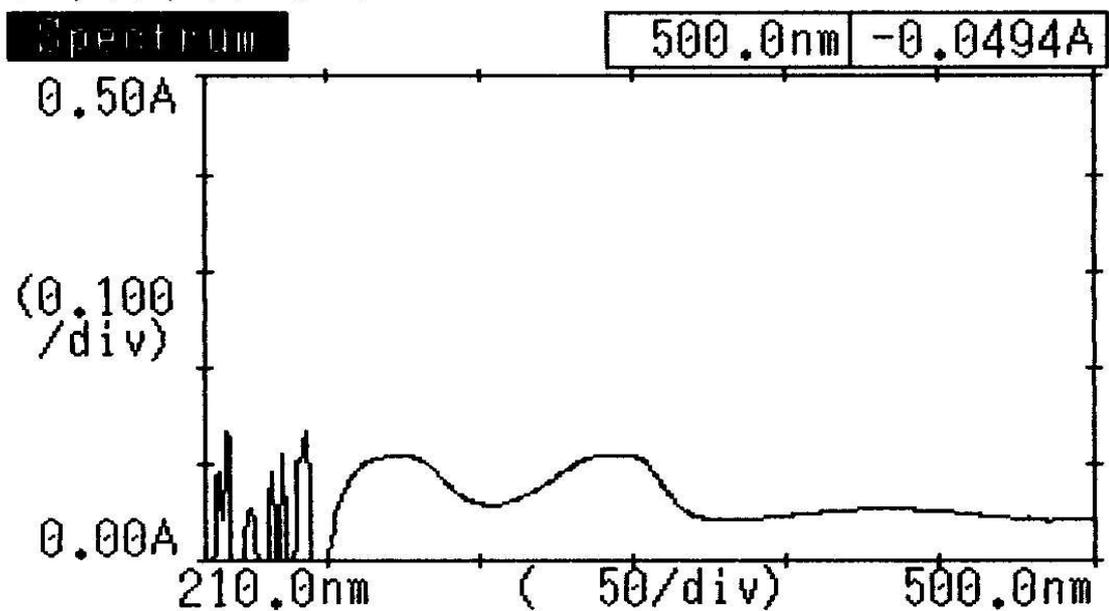


圖 16 UV spectrum of palmatine

07/05/09 14:25:15

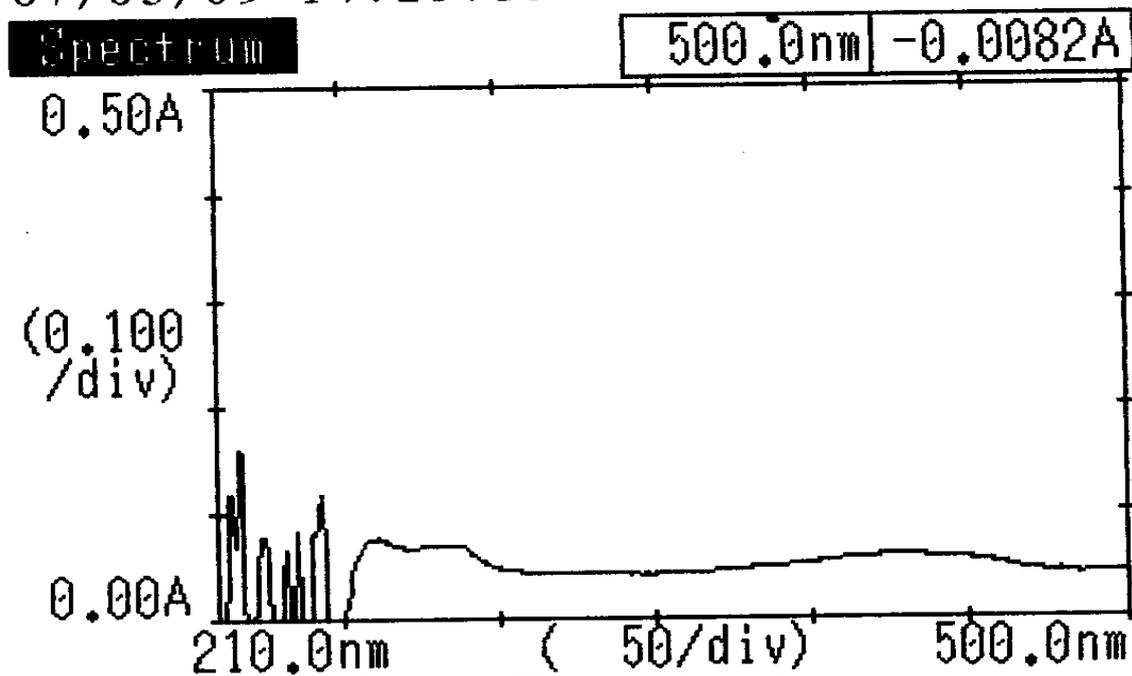


圖 17 UV Spectrum of chrysophanol

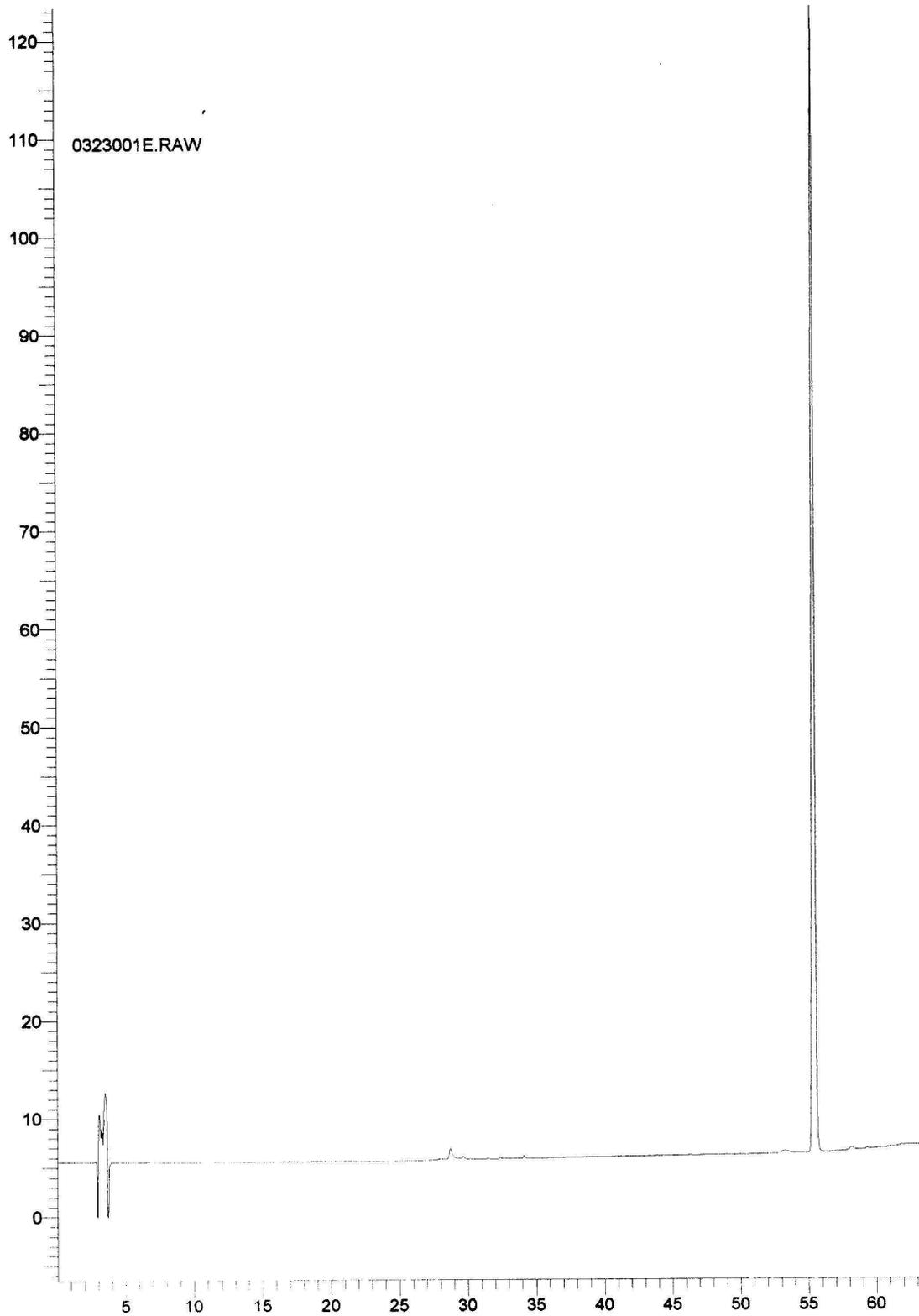


圖 18 indomethacin(IS)高效液相層析圖譜

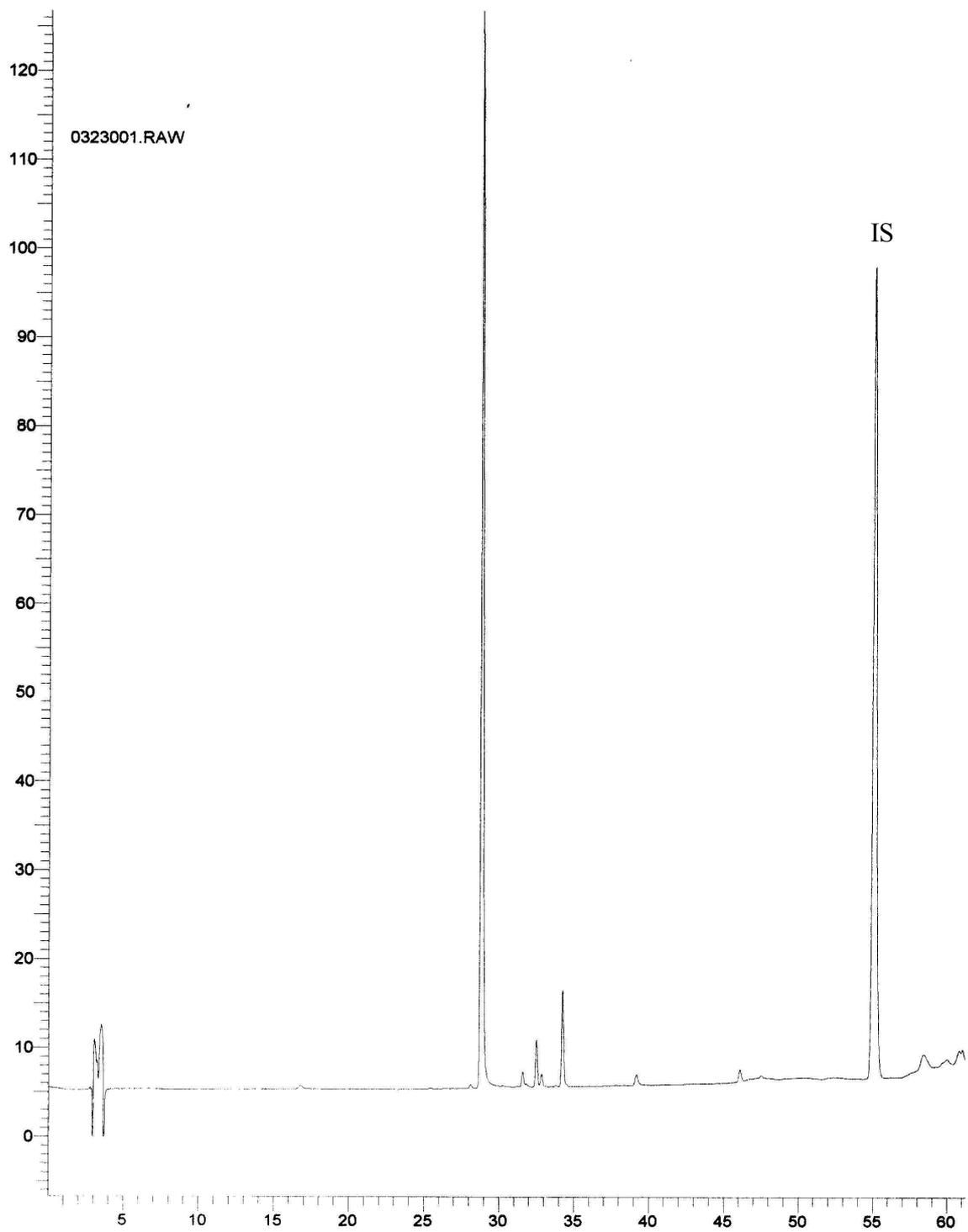


圖 19 baicalin 高效液相層析圖譜

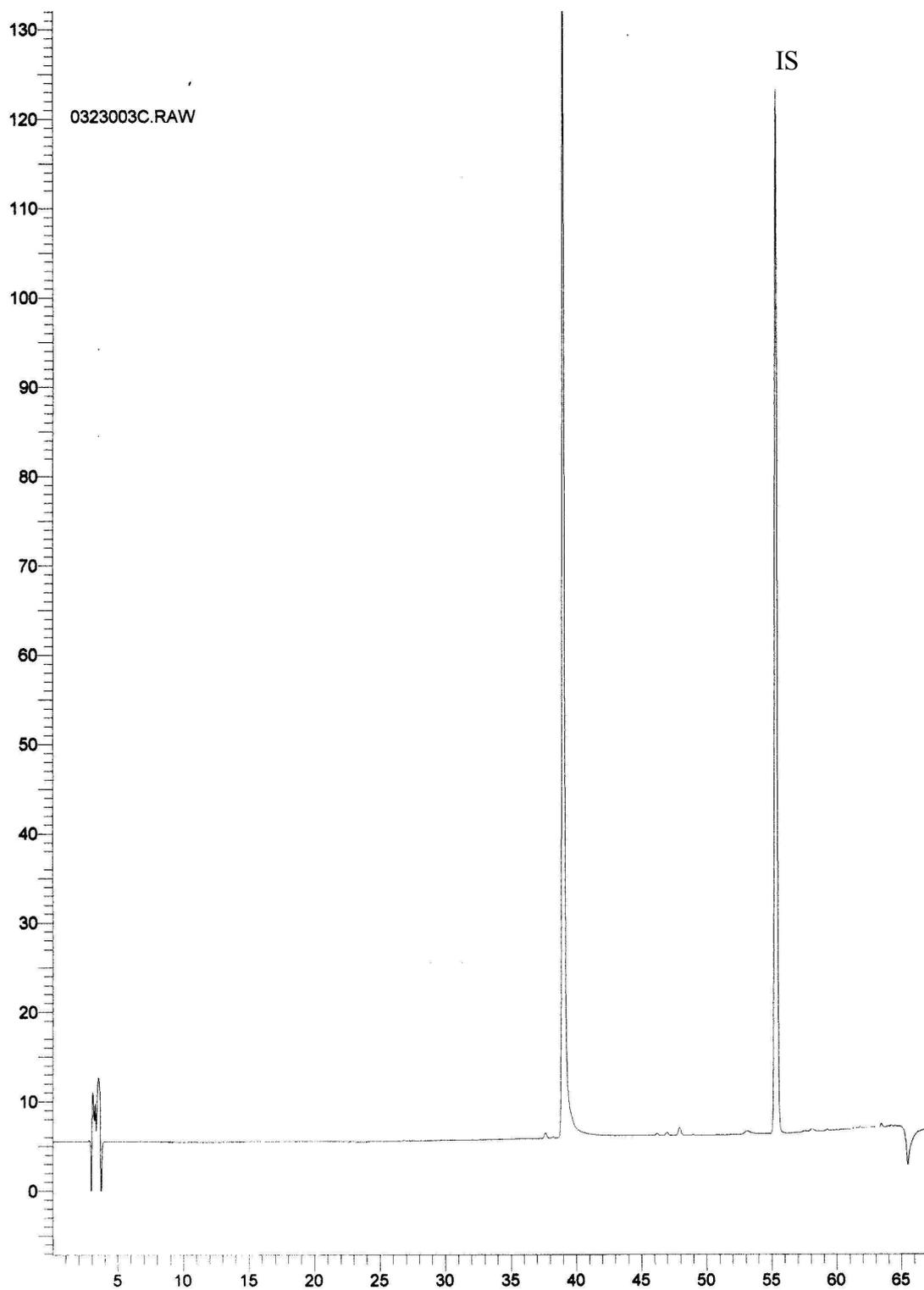


圖 20 baicalein 高效液相層析圖譜

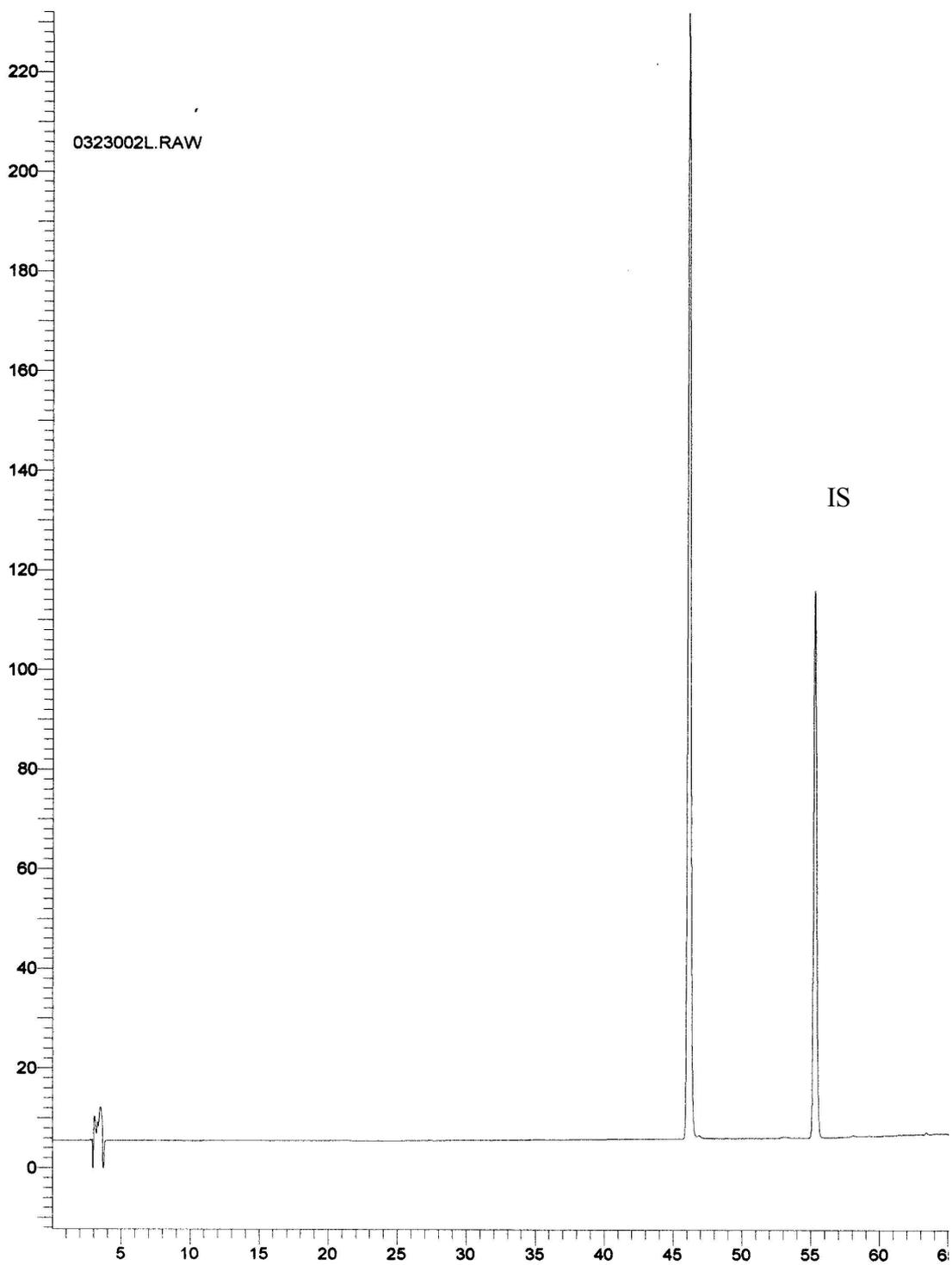


圖 21 wogonin 高效液相層析圖譜

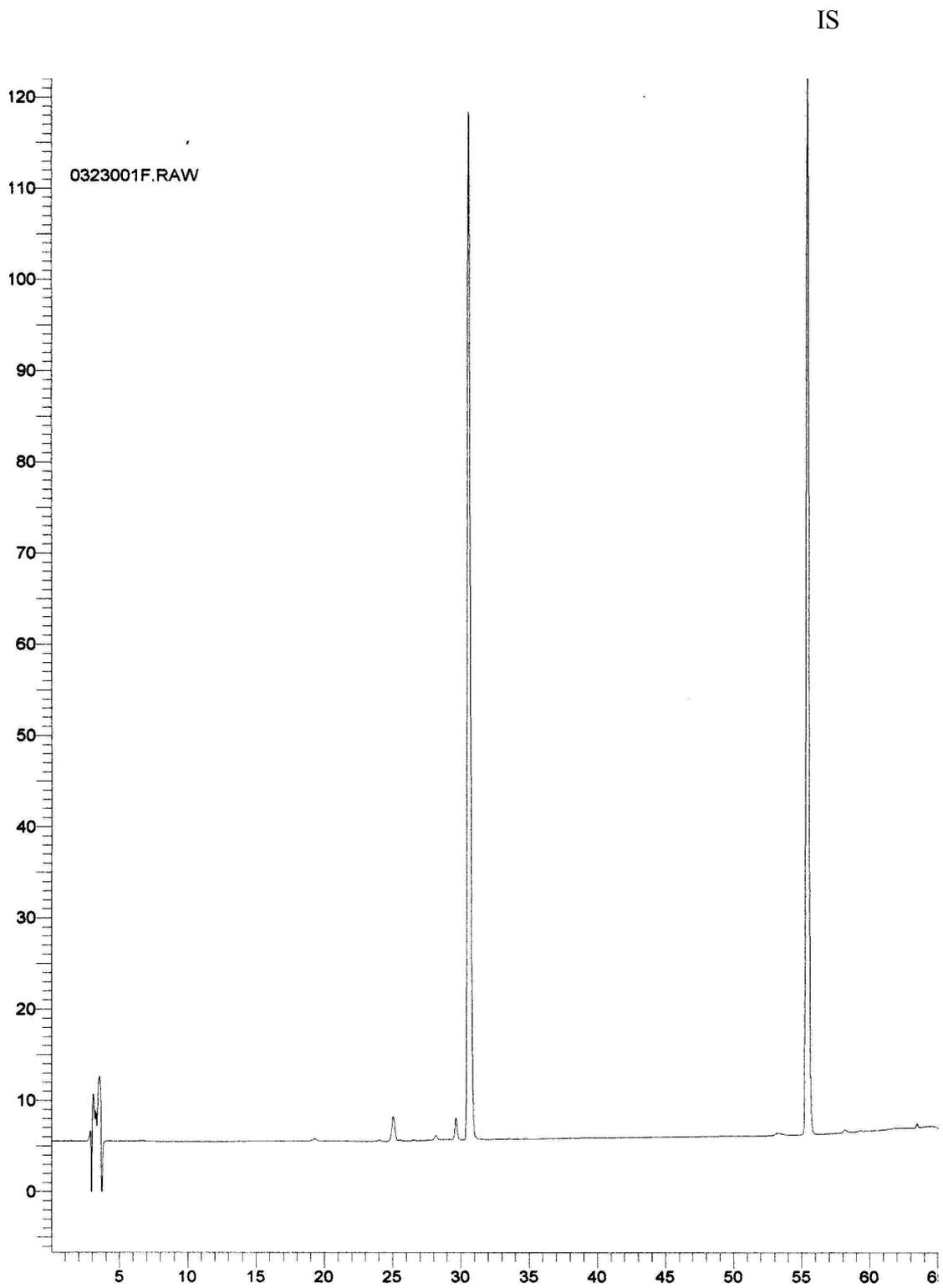


圖 22 berberine 高效液相層析圖譜

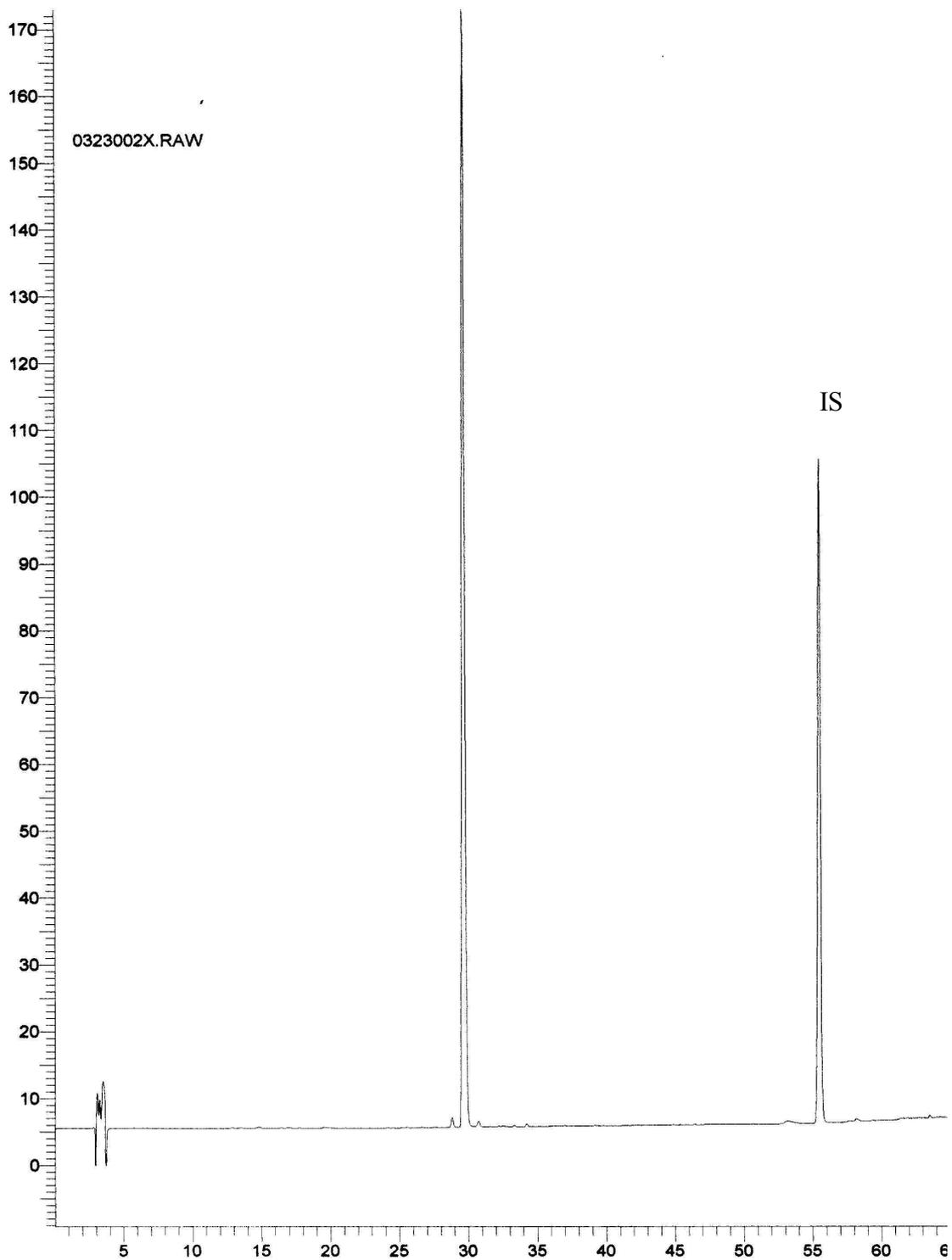


圖 23 palmatine 高效液相層析圖譜

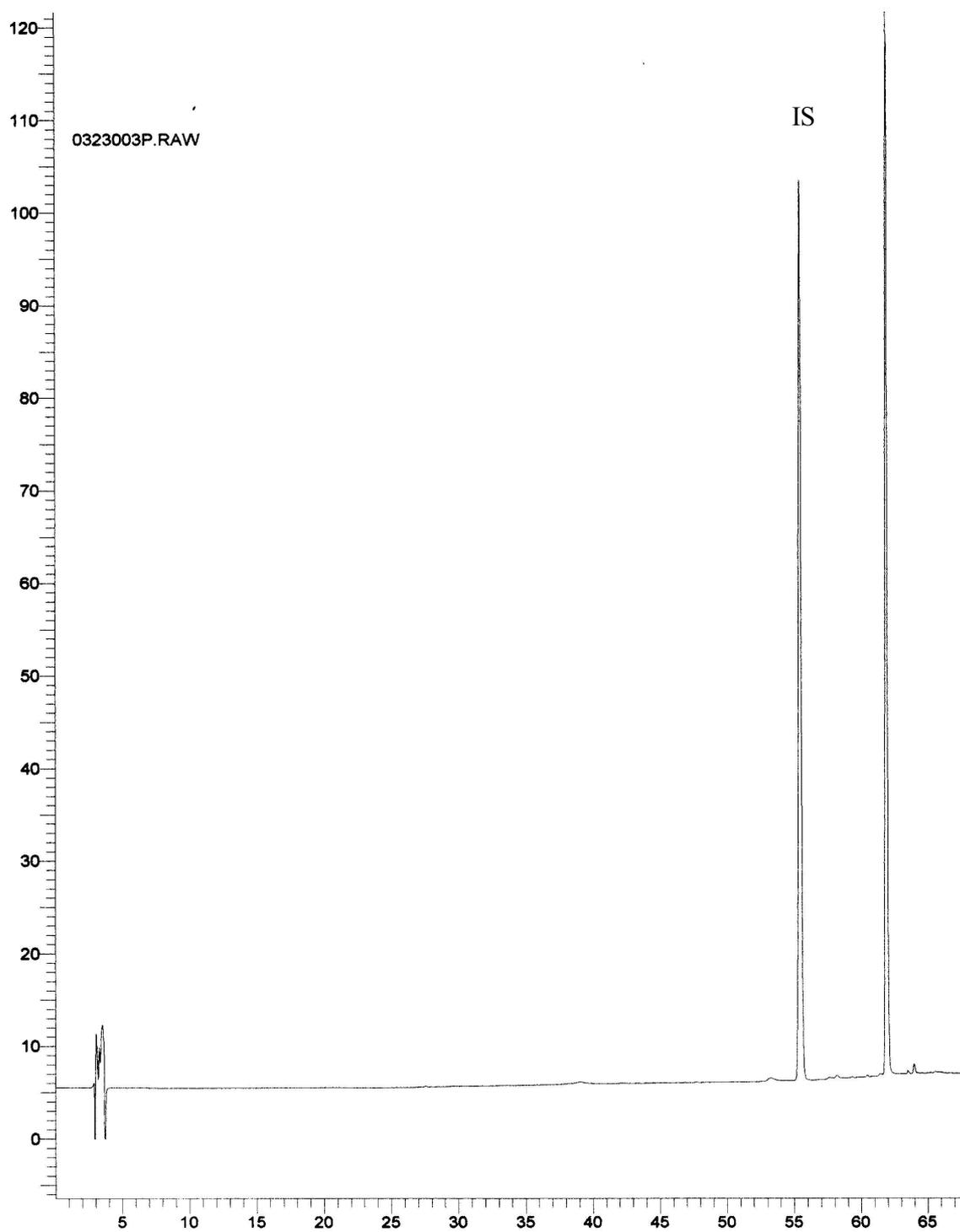


圖 24 chrysophanol 高效液相層析圖譜

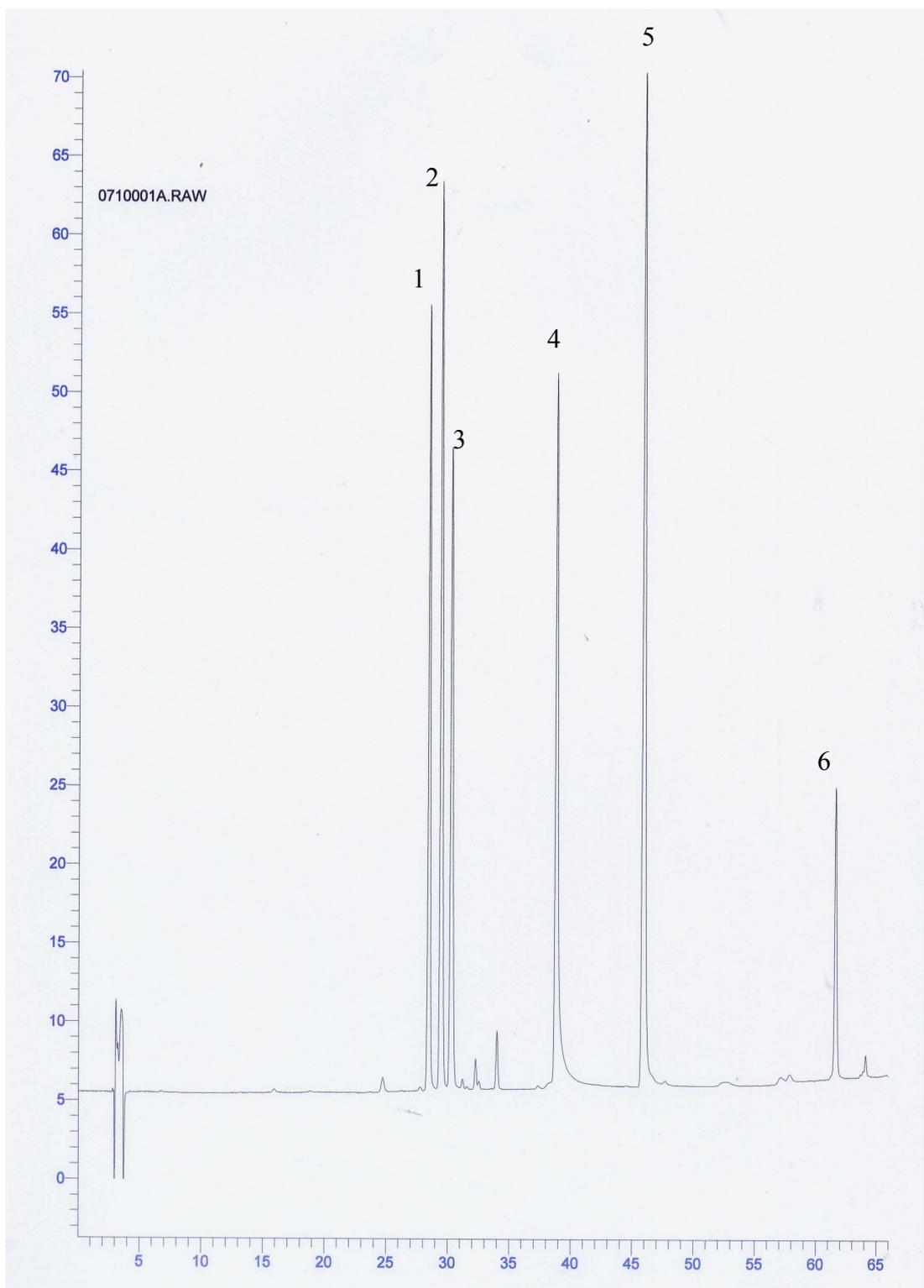


圖 25 三黃瀉心湯指標成分高效液相層析圖譜

1.baicalin 2.palmatine 3.berberine 4.baicalein 5.wogonin
6.chrysophanol

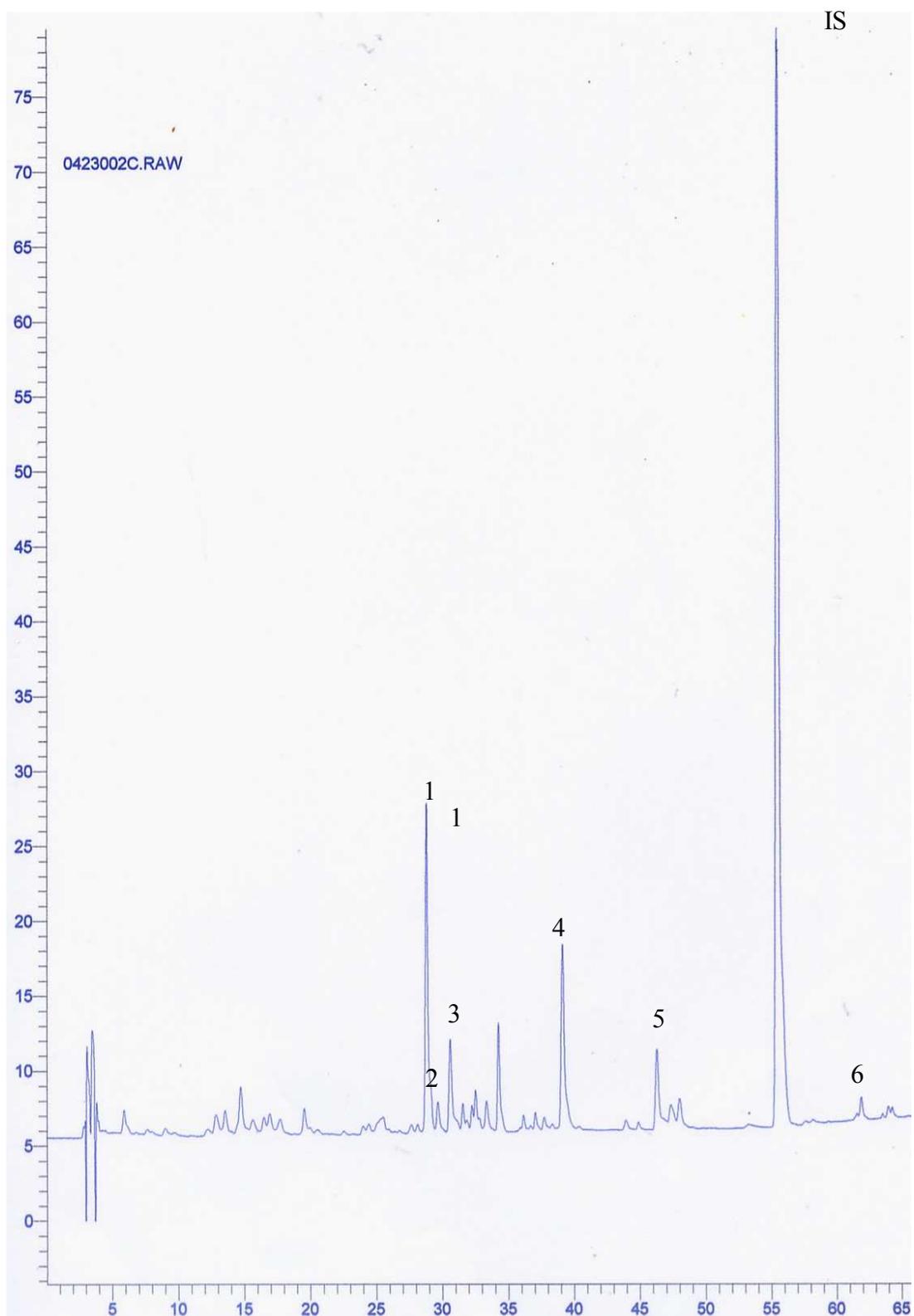


圖 26 三黃瀉心湯奈米化原藥材甲醇萃取高效液相層析圖譜
 1.baicalin 2.palmatine 3.berberine 4.baicalein 5.wogonin
 6.chrysophanol IS:indomethacin

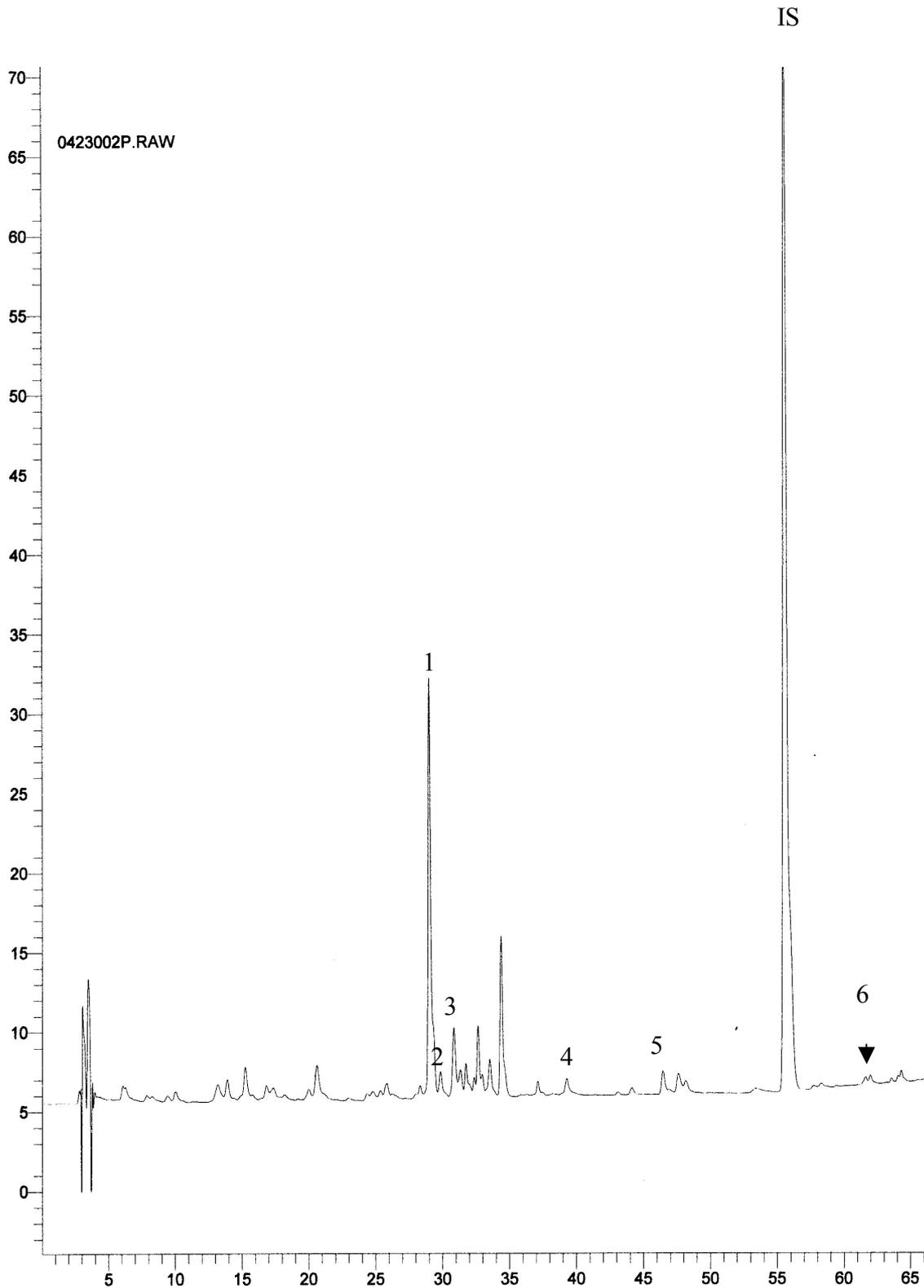


圖 27 三黃瀉心湯奈米化濃縮中藥甲醇萃取高效液相層析圖譜
 1.baicalin 2.palmatine 3.berberine 4.baicalein 5.wogonin
 6.chrysophanol IS:indomethacin

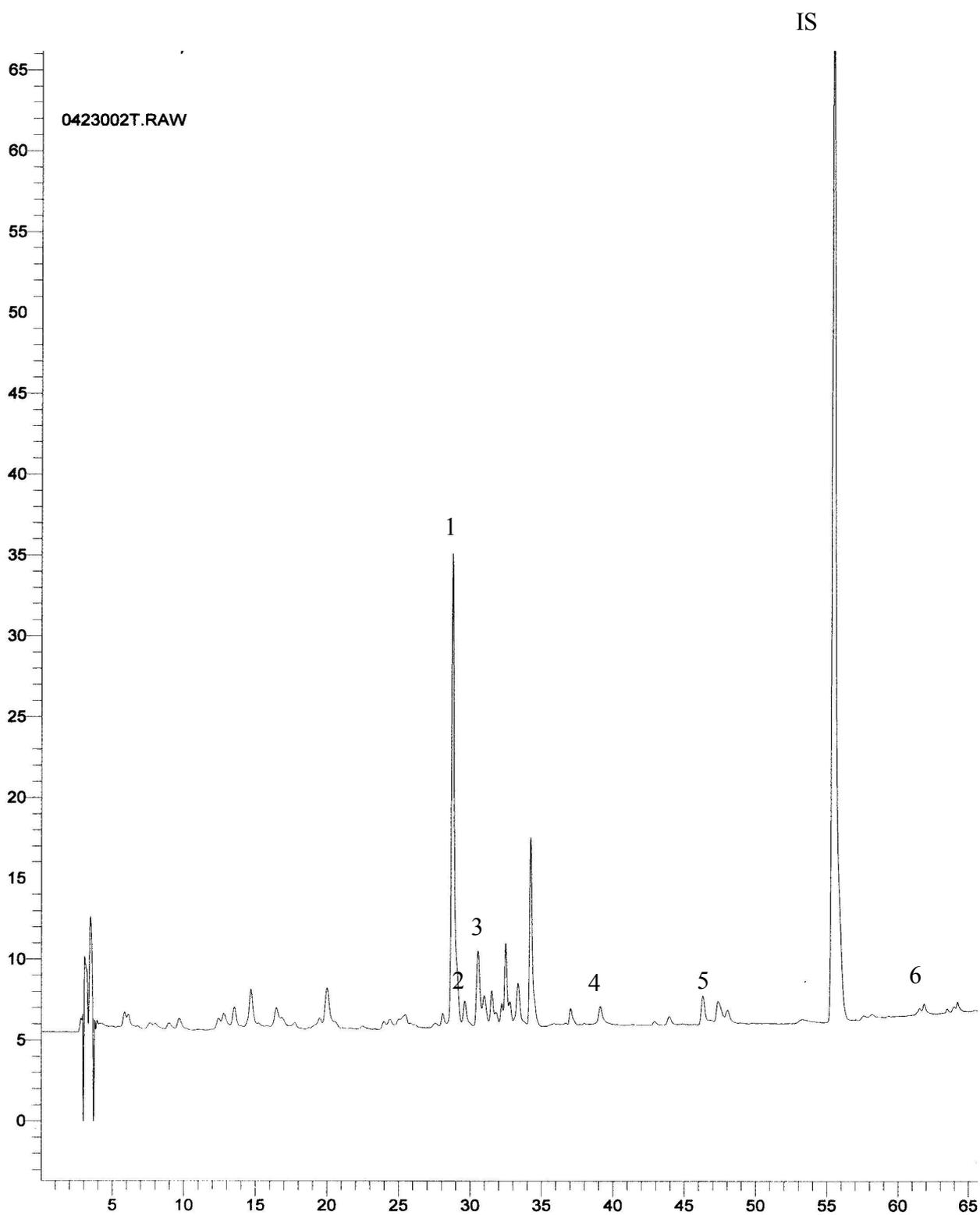


圖 28 三黃瀉心湯濃縮方劑甲醇萃取高效液相層析圖譜

1.baicalin 2.palmatine 3.berberine 4.baicalein 5.wogonin
6.chrysophanol IS:indomethacin

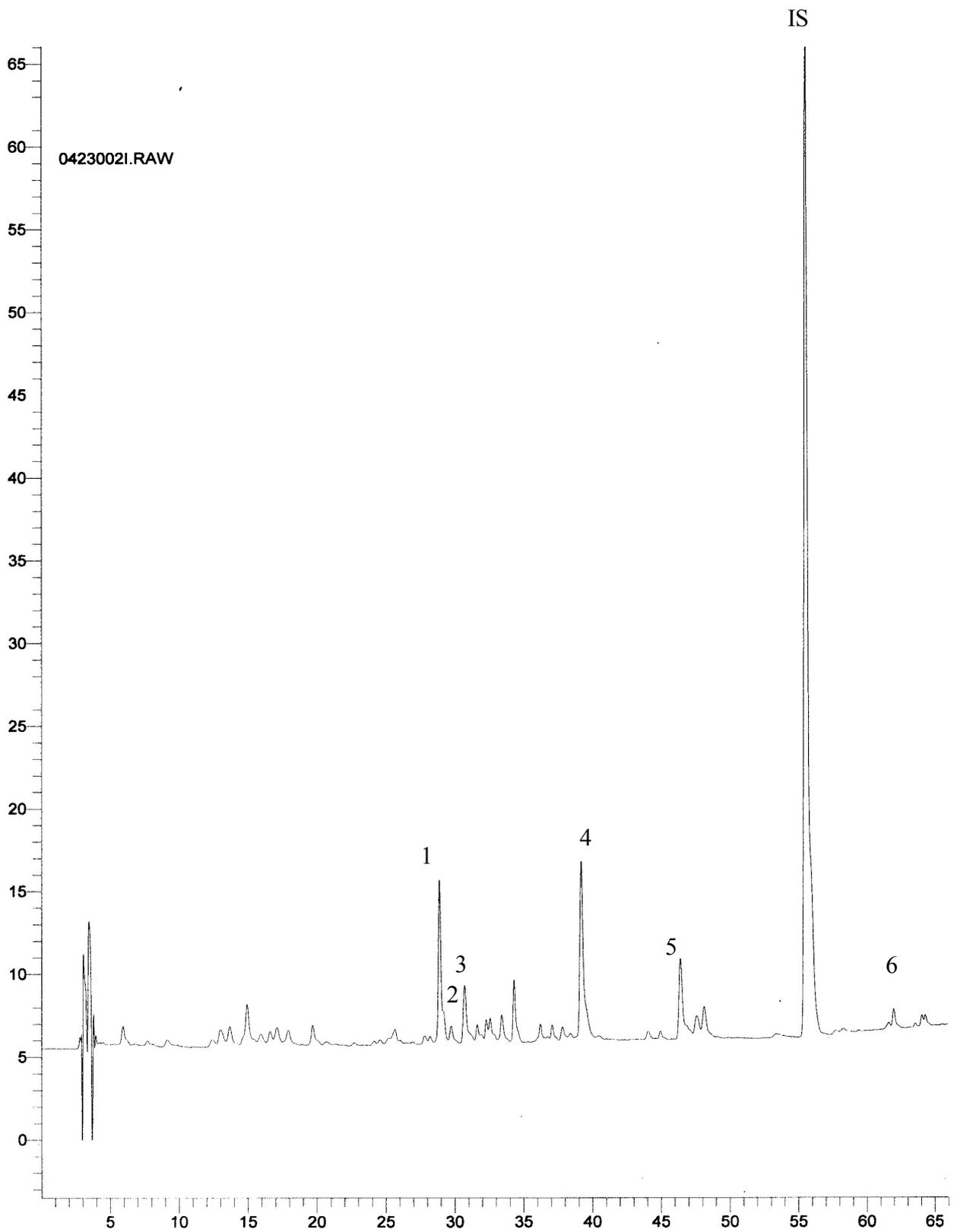


圖 29 三黃瀉心湯粗粉甲醇萃取高效液相層析圖譜

1.baicalin 2.palmatine 3.berberine 4.baicalein 5.wogonin
6.chrysophanol IS:indomethacin

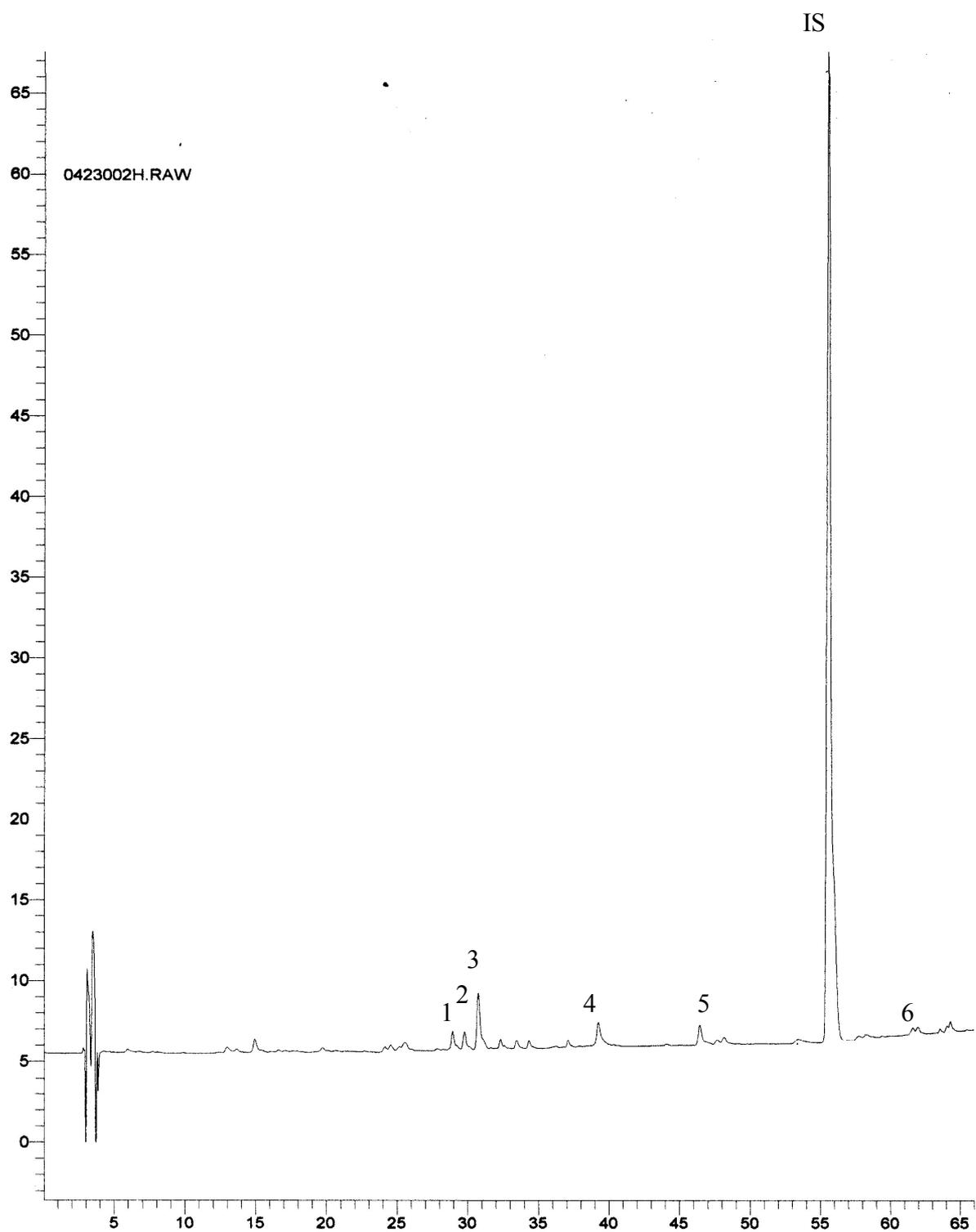


圖 30 三黃瀉心湯原藥材甲醇萃取高效液相層析圖譜

1.baicalin 2.palmatine 3.berberine 4.baicalein 5.wogonin
6.chrysophanol IS:indomethacin

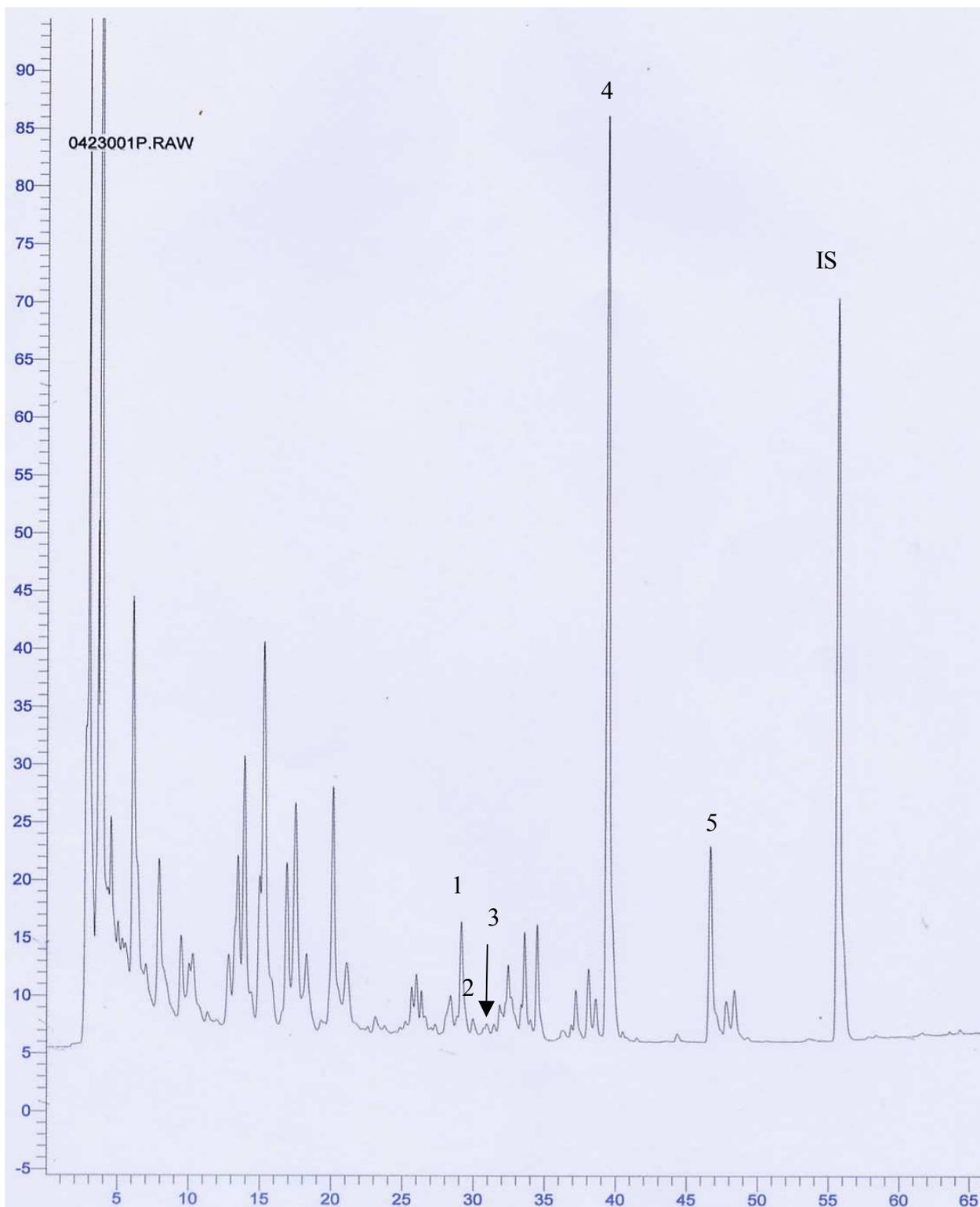


圖 31 三黃瀉心湯奈米化原藥材水萃高效液相層析圖譜

1. baicalin 2.palmatine 3.berberine 4.baicalein 5.wogonin

IS:indomethacin

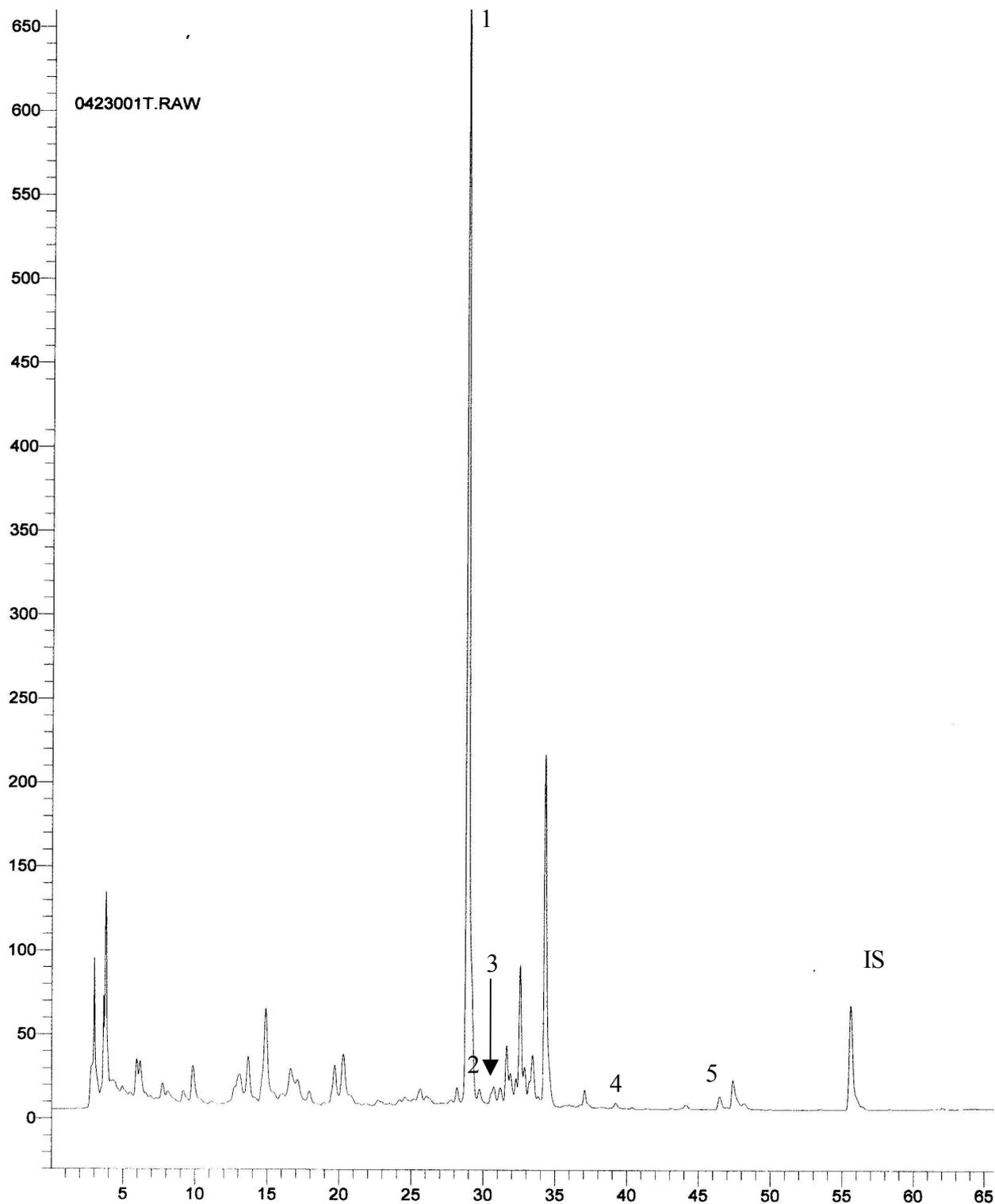


圖 32 三黃瀉心湯奈米化濃縮中藥水萃高效液相層析圖譜

1.baicalin 2.palmatine 3.berberine 4.baicalein 5.wogonin

IS:indomethacin

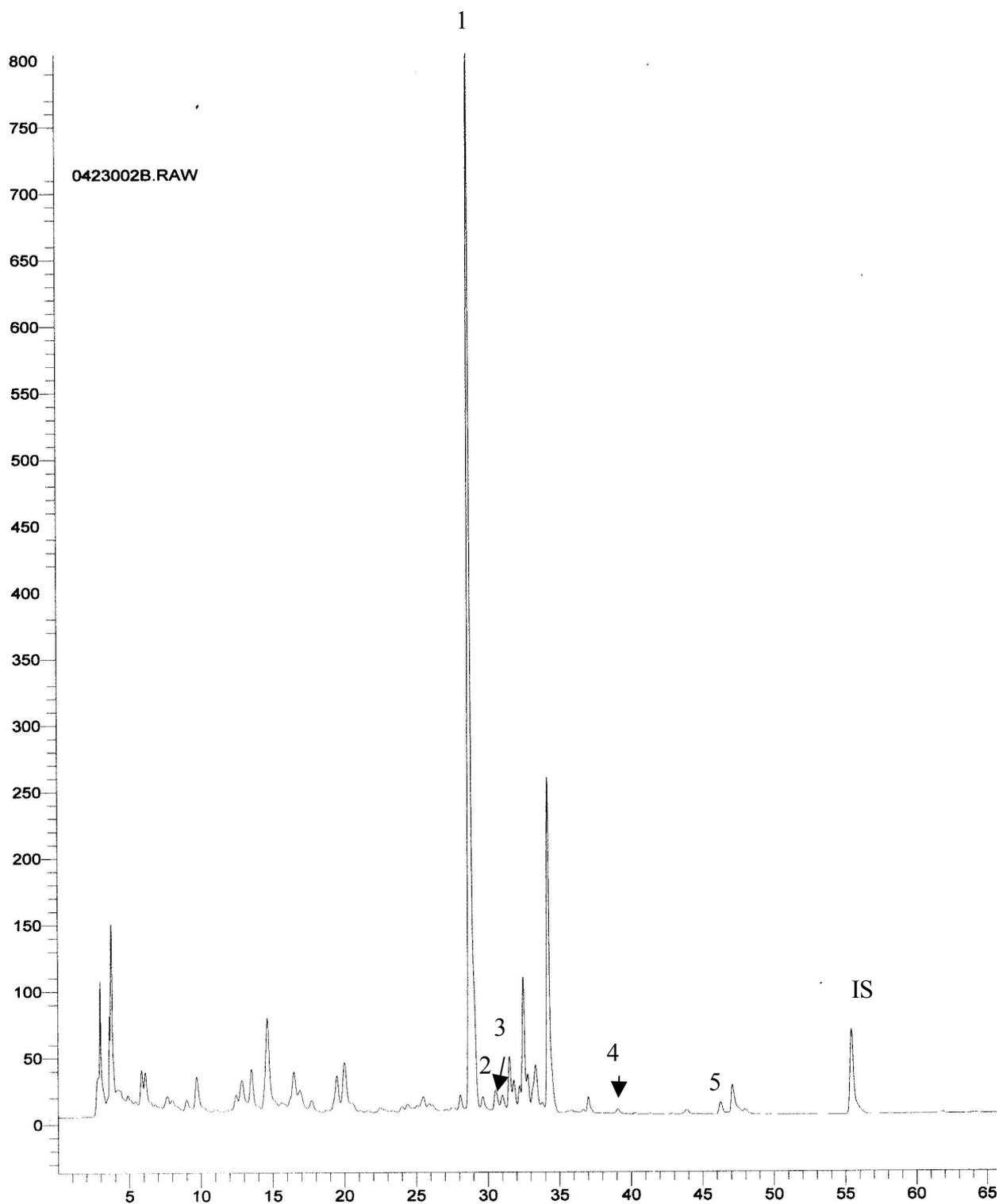


圖 33 三黃瀉心湯濃縮中藥水萃高效液相層析圖譜

1.baicalin 2.palmatine 3.berberine 4.baicalein 5.wogonin

IS:indomethacin

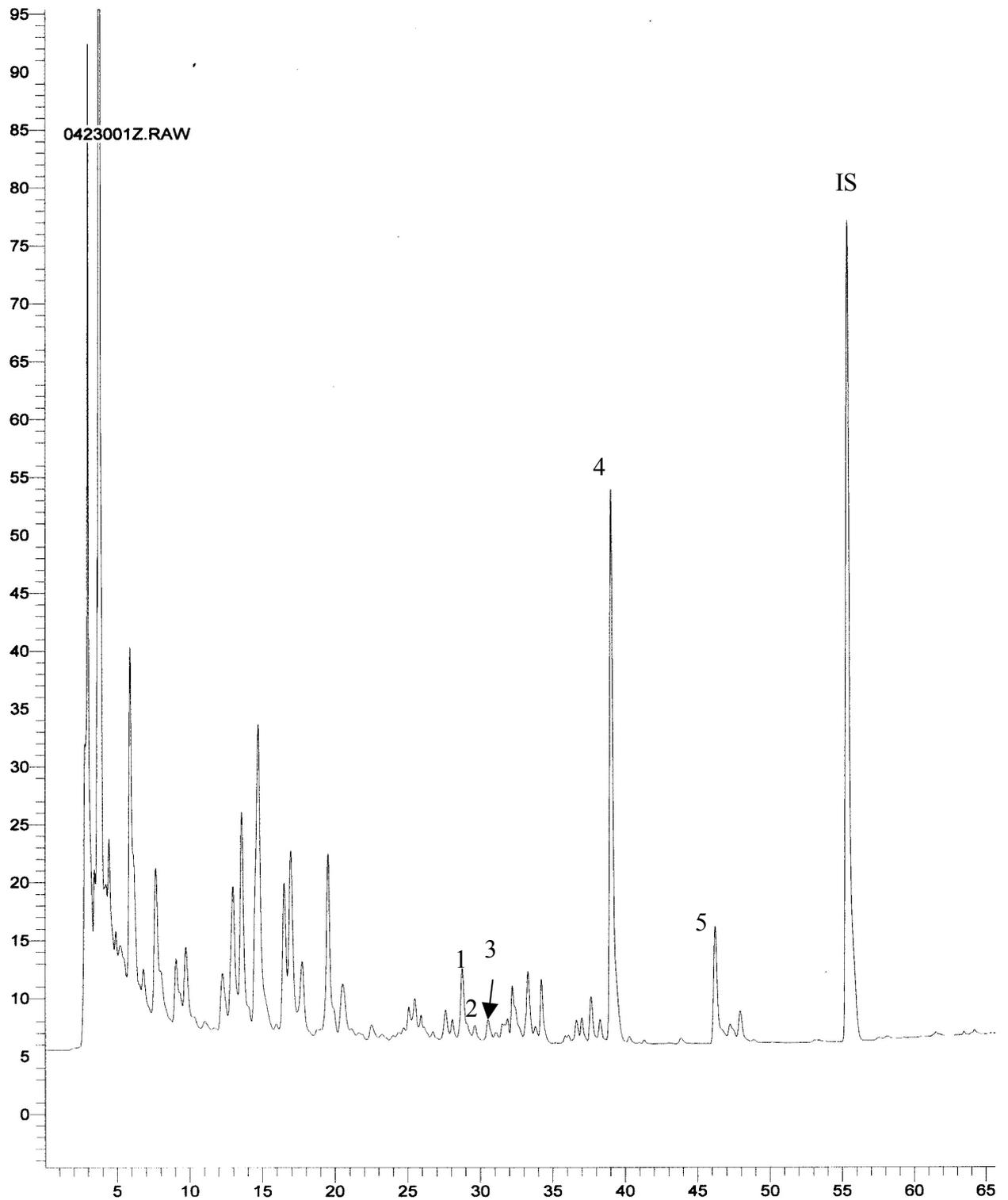


圖 34 三黃瀉心湯粗粉水萃高效液相層析圖譜

1.baicalin 2.palmatine 3.berberine 4.baicalein 5.wogonin

IS:indomethacin

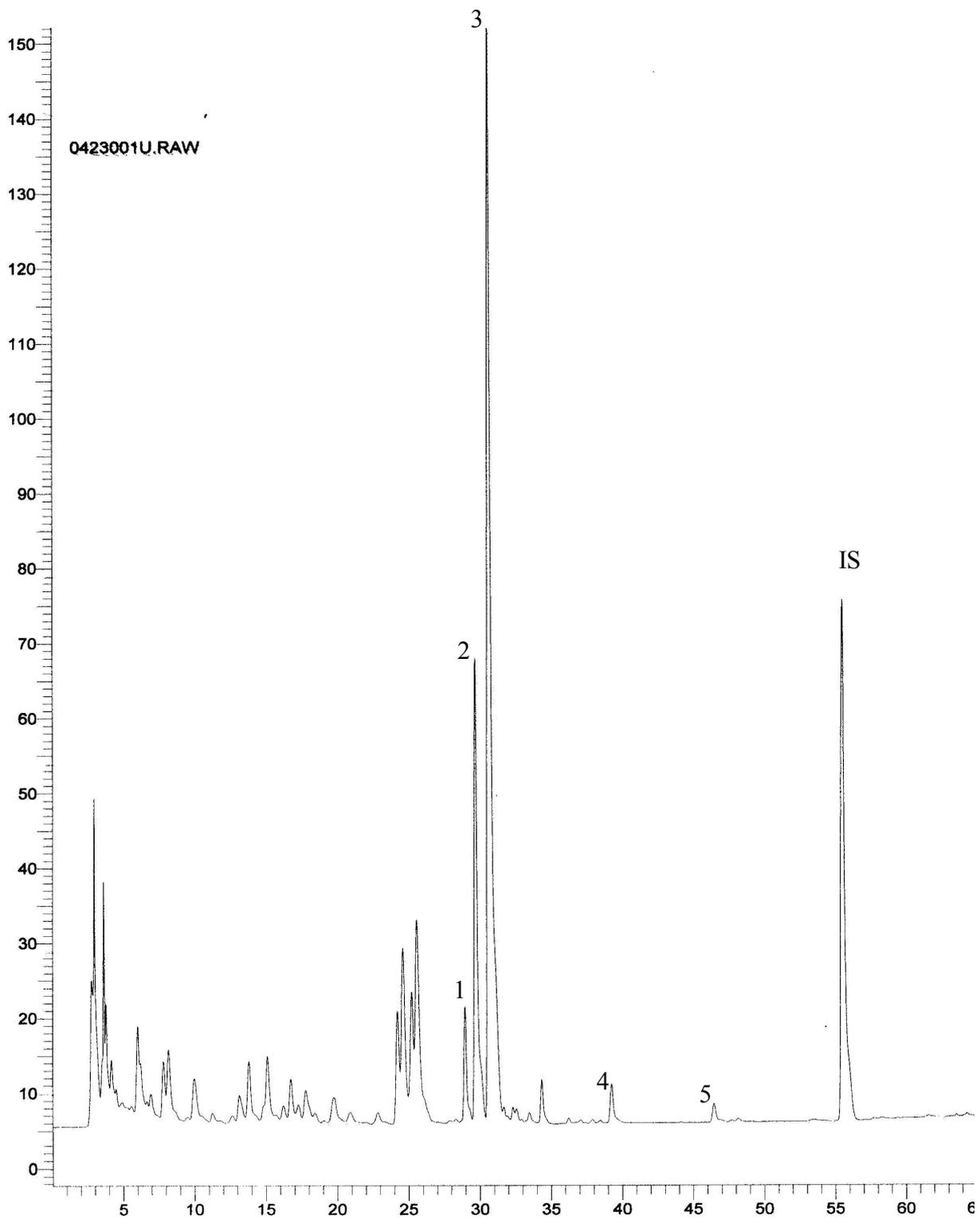


圖 35 三黃瀉心湯原藥材水萃高效液相層析圖譜

1.baicalin 2.palmatine 3.berberine 4.baicalein 5.wogonin

IS:indomethacin

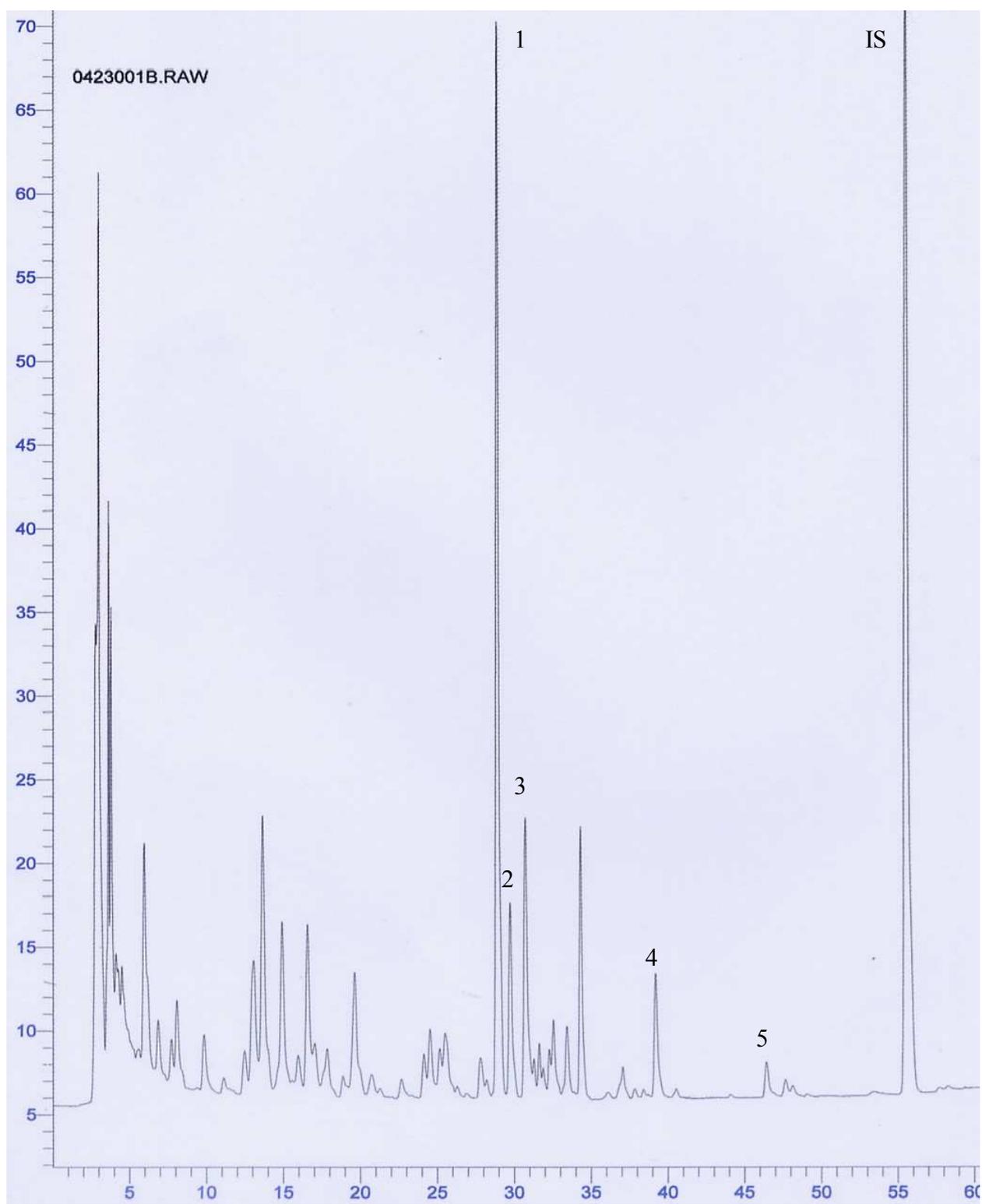


圖 36 三黃瀉心湯奈米化原藥材水煎高效液相層析圖譜

1.baicalin 2.palmatine 3.berberine 4.baicalein 5.wogonin

IS:indomethacin

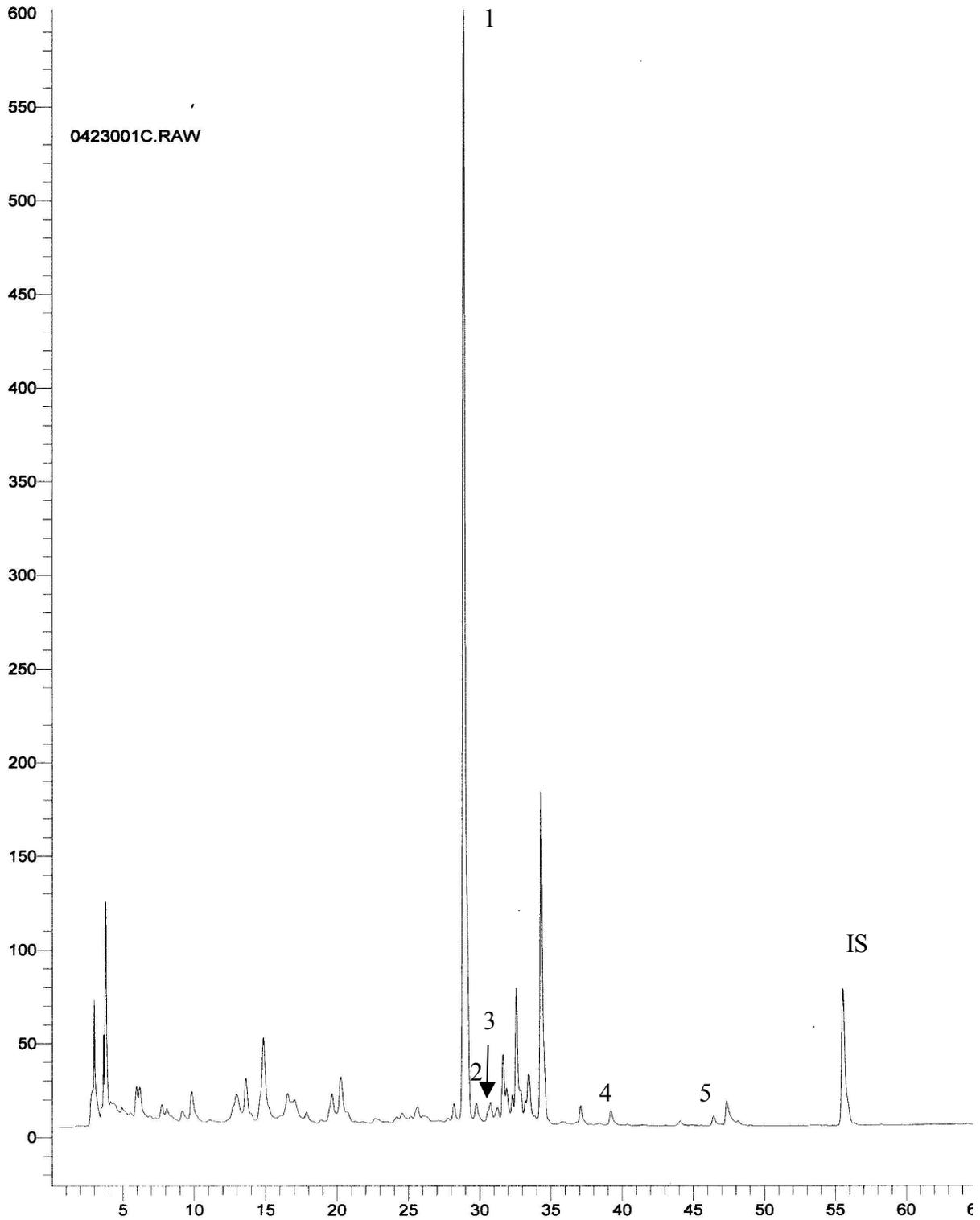


圖 37 三黃瀉心湯奈米化濃縮中藥水煎高效液相層析圖譜

1. baicalin 2.palmatine 3.berberine 4.baicalein 5.wogonin

IS:indomethacin

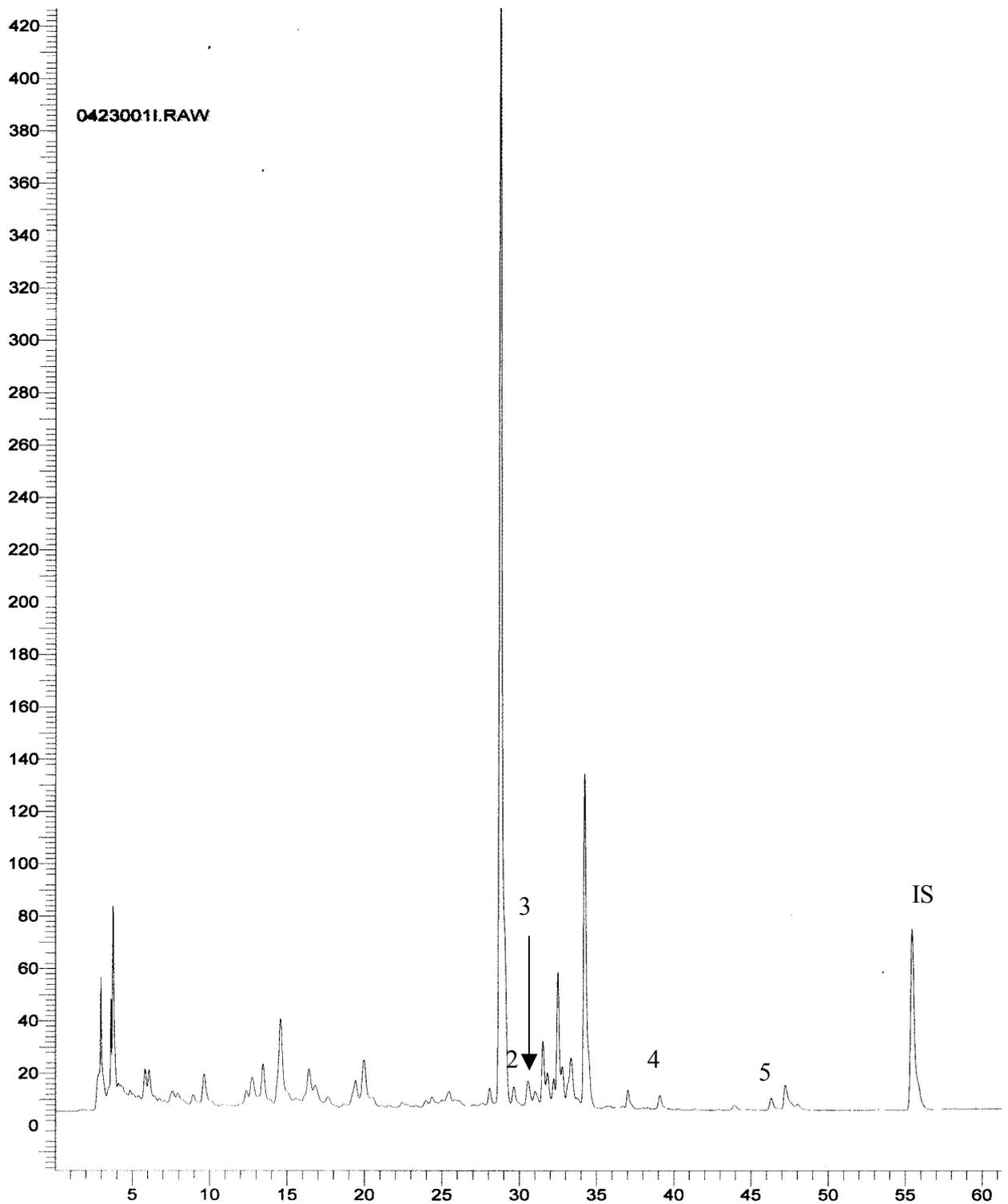


圖 38 三黃瀉心湯濃縮中藥水煎高效液相層析圖譜

1.baicalin 2.palmatine 3.berberine 4.baicalein 5.wogonin

IS:indomethacin

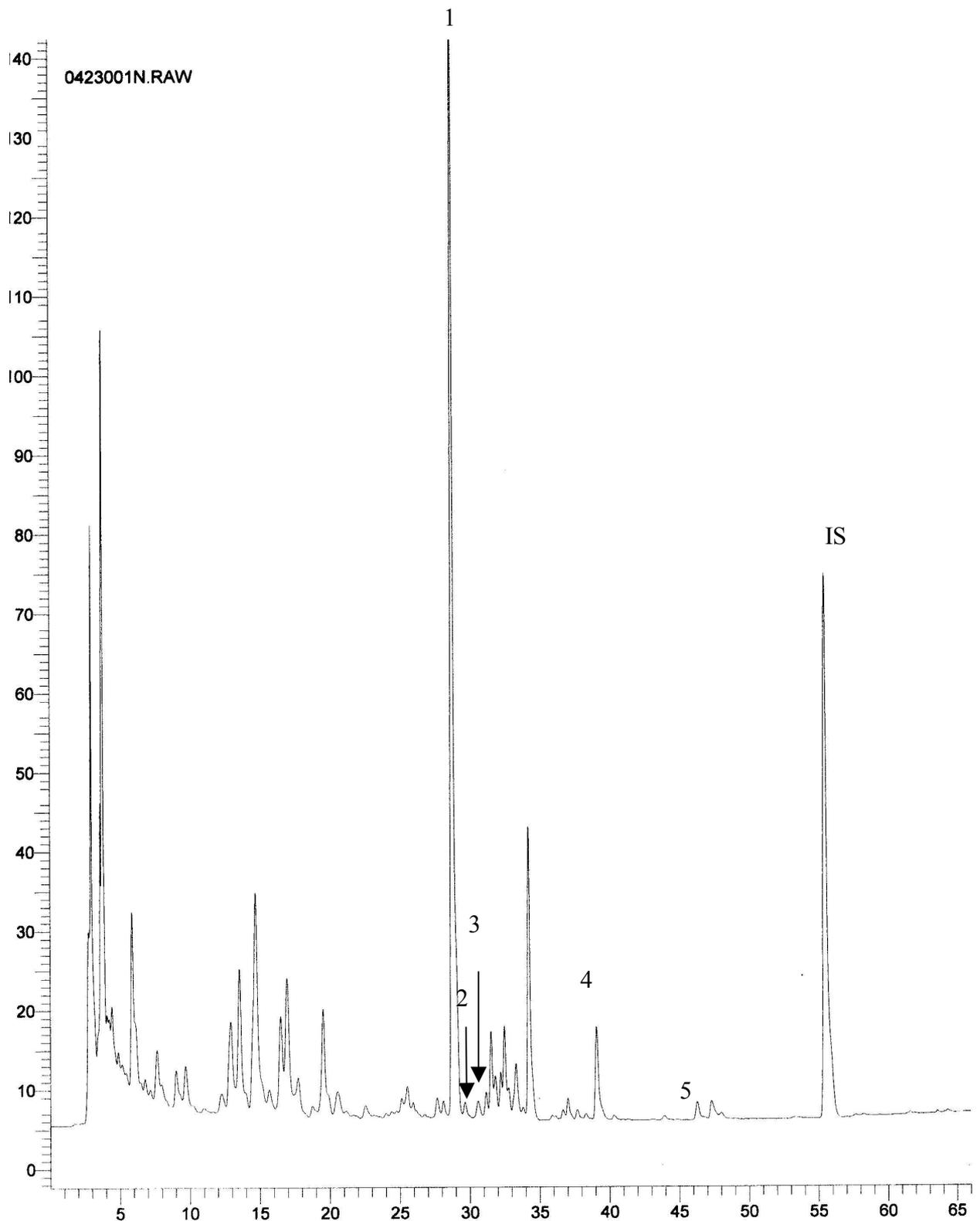


圖 39 三黃瀉心湯粗粉水煎高效液相層析圖譜

1.baicalin 2.palmatine 3.berberine 4.baicalein 5.wogonin

IS:indomethacin

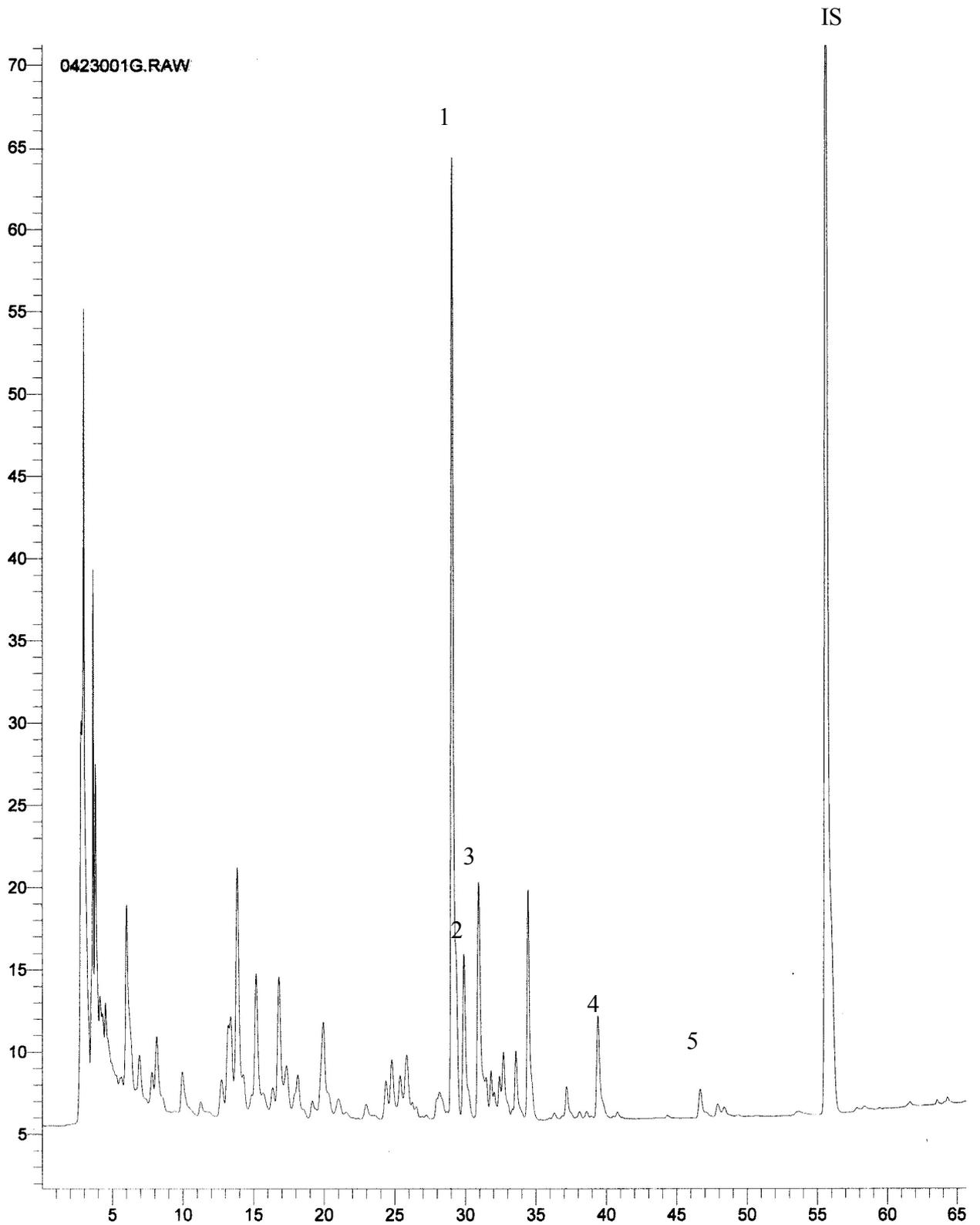


圖 40 三黃瀉心湯原藥材水煎高效液相層析圖譜

1.baicalin 2.palmatine 3.berberine 4.baicalein 5.wogonin

IS:indomethacin

參考文獻

- 1.白吉慶，王昌利，納米技術在中藥製劑研究中的應用，現代中醫藥 **25(6)**，48-50，2005。
- 2.奈米藥物傳輸技術專利地圖及分析，奈米科技專利研究系列，**11(11)**，3，1994。
- 3.徐輝碧，楊祥良，謝長生，楊業江，納米技術在中藥研究中的應用，中國藥科大學學報，**32(3)**，161-165，2001。
- 4.工業研究院奈米科技研發中心 <http://www.ntrc.itri.org.tw/dict/>
- 5.杜曉敏，劉璐，何煜，原生藥材超細微粉製劑的藥效學研究，中草藥，**30(9)**，680-684，1999。
- 6.邊可君，楊祥良，徐輝碧，謝長生，管競環，馬威，納米石決明的研究，中成藥，**25(4)**，296-299，2003。
- 7.李向楊，朱宇同，王豔芳，符林春，黃真炎，黃進梅，邢基斯，王冠軍，青蒿油納米脂質體製劑對痤瘡致病菌的抑制作用，廣州中醫藥大學學報，**21(2)**，122-124，2004。
- 8.林梅，王子好，張東生，含砷納米中藥的研究進展，江蘇中醫藥，**26(11)**，73-75，2005。
- 9.趙玉佳，孟祥麗，李秀玲，曲鳳玉，天門冬水提液及其納米中藥對衰

- 老模型小鼠NOS、NO、LPG 的影響，中國野生植物資源，**24**(3)，
49-51，2005。
- 10.李麗秋，樊準，呂方舟，王春敏，宋淑賢，楊春佳，楊景雲，崔剛，
納米中藥對實驗大鼠脾虛型潰瘍性結腸炎的治療作用，中國微生物
態學雜誌，**17**(4)，266-267，2005。
- 11.孟祥麗，趙玉佳，曹婷婷，曲鳳玉，天地湯及納米中藥對衰老模型
小鼠抗氧化系統的影響，中國現代應用藥學雜誌，**22**(2)，
107-109，2005。
- 12.施中凱，胡曉麗，張曉麗，崔剛，宋淑賢，李麗秋，李儉，納米
中藥女貞子複方製劑對激素造成小鼠腸道菌群失調調整作用，黑
龍江醫藥科學，**28**(1)，31，2005。
- 13.柳娜，楊祥良，納米爐甘石體外抗菌作用的研究，中成藥，**27**(9)，
1083-1084，2005。
- 14.馬培艷，傅正義，張金咏，王玉成，王為民，張清杰，六味地黃
納米顆粒的顯微結構及丹皮酚的測定，中草藥，**36**(9)，1335-1337，
2005。
- 15.胡靜，明彩榮，鄭洪新，林庶如，納米鈣補腎中藥血清對體培養大
鼠成骨細胞增殖的影響，中醫正骨，**17**(5)，1-3，2005。

- 16.蘇亞娟，楊景雲，劉柱，滕立臣，高玲娟，納米鎖陽對肝性腦病腸道菌群及免疫功能的調整，中國微生物學雜誌，**18(6)**，438-440，2006。
- 17.李麗靜，王喜軍，王曉麗，納米三鹿方對骨質疏松大鼠骨密度及鈣磷含量的影響，現代中醫藥，**26(3)**，54-55，2006。
- 18.羅麗雲，張天藍，王夔，雄黃納米微粒對人白血病細胞株HL260的誘導分化作用，中國中藥雜誌，**31(16)**，1343-1346，2006。
- 19.侯建平，李麗靜，王曉麗，王斌，宋德濱，納米鹿茸粗多肽對體外培養軟骨細胞代謝的影響，中國中醫基礎醫學雜誌，**12(7)**，555-556，2006。
- 20.施中凱，胡曉麗，邸智勇，楊景云，納米中藥龍膽草複方製劑對實驗性大鼠癲癇的防治作用，中國微生物學雜誌，**19(1)**，14-15，2007。
- 21.鞠寶玲，陸葉，唐小云，張曉麗，楊景雲，四君子湯及其納米製劑對微生態失調小鼠的調整作用，中國微生物學雜誌，**19(1)**，6-8，2007。
- 22.石麗仙，中藥奈米化對中藥成分之影響探討，衛生署計畫(NSC94-2622-B150-001-CC3)，2005。

- 23.吳黛葳，奈米化中草藥對兔子骨髓間葉幹細胞生長影響之研究，
中原大學醫學工程研究所碩士論文，桃園，2005。
- 24.王國禎,廖俊旺,林寬鋸,鍾婷婷,蔡慶修，奈中藥微奈米化之安全性評
估，衛生署計畫(CCMP94-CP-011)，2005。
- 25.張志浩，紫草油新型奈米微包液之製備及動物燙傷療效評估，高
雄醫學大學藥學研究所碩士論文，高雄，2005。
- 26.溫曉薇,郭昭麟,周鳳英，人參中藥之微、奈米化製程研發及其安全性
評估，衛生署計畫(CCMP95-CP-011)，2006。
- 27.張淑貞,張恆雄,蔡金川,林國瑞,王國禎，整合型計畫:保肝中藥微(奈)
米化技術開發及安全性研究-子計畫二：保肝保肝中藥微(奈)米化
之分析研究，衛生署計畫(CCMP95-CP-012)，2006。
- 28.張恆雄，奈米化食品預防骨質疏鬆症之保健功效與安全性評估，衛
生署計畫(DOH95-TD-F-113-040-(2)(2/2))，2007。
- 29.張仲景，金匱要略方論，中國醫藥學大學圖書館藏書，台聯國風出
版社，1973。
- 30.矢數道明，臨床應用漢方處方解說，正言出版社，28-29，1985。
- 31.韓超，潘競鏘，劉惠純，李皚洁，杜洁煒，瀉心湯對正常和多種糖
尿病模型動物的降血糖作用，中國實驗方劑學雜誌，6(4)，33-35，
2000。

- 32.蘇加新，三黃瀉心湯品質管制及其活性成分藥物動力學研究，
高雄醫學大學藥學研究所碩士論文，高雄，2003。
- 33.賴錦益，三黃瀉心湯的藥物動力學及生體可用率之研究，中國醫藥
大學中國藥學研究所碩士論文，臺中，1997。
- 34.呂瓊芳，中藥製劑分析方法之開發研究-杏仁、三黃瀉心湯及小承
氣湯製劑，台灣師範大學化學研究所碩士論文，臺北，1993。
- 35.何露菁：三黃瀉心湯之代謝動力學及其對環孢靈動力學之影響。
中國醫藥大學中國藥學研究所碩士論文，臺中，2003。
- 36.謝佩勳，三黃瀉心湯之生物藥學研究，中國醫藥大學中國藥學研
究所碩士論文，臺中，2004。
- 37.孫章隆，三黃瀉心湯成分，生物活性以及定性定量分析之研究。
高雄醫學大學天然藥物研究所碩士論文，高雄，2004。
38. Chang, Lin-Chau; Sun, Shao-Wen Micellar electrokinetic chromato-
graphy for separation of a mixture of Coptis alkaloids, Scutellariae
flavonoids, and rhubarb anthraquinones and bianthrone, *Journal of
Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **40**(1),62-67,2005.
39. Huang, Yaw-Bin. Wu, Su Pao-Chu, Wu Chia-Shin, Tsai Yang-Chang.,
Yi-Hung. Simultaneous quantification of twelve bioactive components
in San-huang-xie-xin-tang by HPLC, *Phytochemical Analysis*, **17**(6):
439-46, 2006.
- 40.蔣曄，郝曉花，劉紅菊，非水反相液相色譜法測定三黃片中大黃

酸、大黃素、大黃酚和大黃素甲醚的含量，中草藥，**36(3)**，378-380，2005。

41. Li Yi , Gao Jian Ping, Xu Xu, Simultaneous Determination of Baicalin , Berberine and Rhein by HPLC in Traditional Chinese Patent Medicine Sanhuang Tablets, Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences, **14(2)** , 110-114, 2005.

42.馮有龍，余伯陽，董小平，高效液相色譜法同時測定三黃片中的蒽醌類、黃酮類及生物鹼類化合物，藥學學報，**41(3)**，285-288
2006。

43.田秀霞，蔣曄，RP-HPLC 同時測定三黃片中4種有效成分的含量，中國藥學雜誌，**41(3)**，220-222，2006。

44.張琳巧，三黃瀉心湯、固醇類荷爾蒙及維生素E之毛細管電泳分析，臺灣大學，藥學研究所博士論文，臺北，2007。

45.張恒鴻，三黃瀉心湯治療本態性高血壓之研究。中國醫藥大學，中國醫學研究所碩士論文，臺中，1983。

46.賴東淵，三黃瀉心湯之藥理學研究。中國醫藥大學，中國藥學研究所碩士論文，臺中，1984。

47.吳杰，馬翠蘭，王佗，三黃製劑降血脂作用研究，時珍國醫國藥，**12(3)**，206，2001。

- 48.朱嘉一，三黃瀉心湯對於中樞神經系統之藥理學研究。中國醫藥大學，中國醫學研究所碩士論文，臺中，1984。
- 49.高尚德，三黃瀉心湯對交感神經活性與焦慮之影響。中國醫藥大學中國醫學研究所碩士論文，臺中，1984。
- 50.蔡佩玲，探討三黃瀉心湯是否可改善內毒素脂多糖體(Lipopolysaccharides, LPS)所造成的發炎反應以及對大鼠引起之低血壓及細胞激素釋放之作用，高雄醫學大學醫學研究所碩士論文，高雄，2002。
- 51.林怡伶，三黃瀉心湯經由抑制 p38 MAP kinase 相關路徑治療內毒素引發之低血壓及肺部傷害，高雄醫學大學醫學研究所碩士論文，高雄，2003。
52. Lo Y.C., Lin Y.L., Yu K.L., Lai Y.H., Wu Y.C., Ann L.M., Chen I.J., San-Huang-Xie-Xin-Tang attenuates inflammatory responses in lipopolysaccharide-exposed rat lungs, *Journal of Ethnopharmacology* **101**, 68-74, 2005.
53. Lo Yi-Ching, Tsai Pei-Ling, Huang Yaw-Bin, Shen Kuo-Pyng, Yi-Hung Tsai, Yang-Chang Wu, Yung-Hsiung Lai, Ing-Jun Chen, San-Huang-Xie-Xin-Tang reduces lipopolysaccharides-induced hypotension and inflammatory mediators, *Journal of Ethnopharmacology* **96**, 99-06, 2005.
- 54.劉純純，三黃瀉心湯及其相關組成之抗癌和抗病毒活性研究。高

- 雄醫學大學醫學研究所碩士論文，高雄，2004。
- 55.施宇姿，中草藥及幽門螺旋桿菌對胃腸道癌細胞影響之相關研究，高雄醫學大學藥理學研究所碩士論文，高雄，2005。
- 56.魏曉芬，李靜準，郭玉成，三黃瀉心湯不同劑型的體外抑菌作用觀察，承德醫學院學報，**23**(1)，41-42，2006。
57. Lin Wen-Chuan and Tan Tsu-Wei , The role of gastric muscle relaxation in cytoprotection induced by San-huang-xie-xin-tang in rats, *Journal of Ethnopharmacology*, **96**, 99-106, 2005.
58. Budavari S. *The Merck Index*, Merck & Co. Inc., 13th ed., NJ, USA, 2001.
- 59.孫文基，繩金房，天然活性成分簡明手冊，69-600，中國醫藥科技出版社，1997。
- 60.孫吉平，賈延勃，宋健輝，楊于嘉，黃芩苷抑制大鼠胰島細胞瘤細胞株增殖的分子機制研究，中國中西醫結合雜誌，**26**(4)，2006。
61. Ou Yang Chang-Han, Wu Ji-Liang, Protective effect of baicalin on inflammatory injury following transient focal cerebral ISchemia-reperfusion in rats, *China Journal of Pharmacol Toxicol*, **20**(4), 288-294, 2006.
- 62.劉清光，顧方明，宋濤，黃芩苷治療重症急性胰腺炎肺損傷的實驗研究，西安交通大學學報(醫學版)，**26**(4)，2005。

63. http://www.sigmaaldrich.com/Area_of_Interest/Asia_Pacific_Rim/China.html
64. 左彦方，郭毅，姜昕，李方明，王啟章，小檗鹼對兔動脈粥樣硬化及其血脂的影響，中國腦血管病雜誌，**3(5)**，204-207，2006。
65. 王海燕，趙雪花，何麗姪，黃連素抗癌作用的分子機制，中國藥房，**18(3)**，221-222，2007。
66. 姚傳星，夏國瑾，戴水平，江明性，黃文彪，黃忱，彭司勛，7-氯苄基四氫巴馬汀的抗心律失常作用，中國藥理學與毒理學雜誌，**9(3)**，220-223，1995。
67. 王立明，張如松，方瑞英，葛文在，黃芩有效成分對四氯化碳致傷的原代培養大鼠肝細胞的作用，浙江醫科大學學報，**25(6)**，241-244，1996。