

中藥製劑安中散之定量研究

張麗卿 許順吉

國立台灣師範大學化學研究所

摘 要

安中散為治氣血刺痛之重要方劑,含桂枝、縮砂、玄胡索、良薑、牡蠣、甘草、小茴香等藥材,本文以君藥桂枝的肉桂醛、香豆素、肉桂酸,及使藥甘草的甘草酸為指標,利用高效能液相層析儀評估中藥製劑的品質,並探討不同配伍、添加量、炮炙品對整體方劑的影響。實驗數據顯示,以水煎煮時,精油成分的抽出量很少,經濃縮續有大量損失;含桂枝之安中散的香豆素、肉桂醛含量高於桂枝單獨煎煮者,添加桂皮時結果相反,兩者製成的製劑有很大不同;添加牡蠣可改變溶液的 pH 值,對肉桂酸、甘草酸的萃取率有很大增進作用;缺甘草或桂枝則各指標成分含量均減少,減去小茴香則各成分抽出量明顯增加;添加桂皮的炮炙品,對方劑的綜合化學成分含量有影響。藥材選用、方劑配伍、製作過程若不同,則製劑成分含量會有明顯差異,因此,市售製劑與自配濃縮浸膏有很大不同。

前 言

中藥方劑通常由多種藥材依君臣佐使配伍合併組成,這些組成藥材或所含成分間可能發生一些複合作用,因此在藥理上會出現協力、拮抗或變移現象。安中散為治氣血刺痛之重要方劑,始載於太平惠民和劑局方,含桂枝、縮砂、玄胡索、良薑、牡蠣、甘草、小茴香等七味藥材,桂枝通血脈、順鬱血並治腹痛;玄胡索通經和鎮治胸腹疼痛;良薑溫胃順氣,抑止神經性疼痛;甘草調和諸藥,使藥效加強⁽¹⁾。本研究以該方君藥桂枝的肉桂醛(cinnamaldehyde)^(2,3)、肉桂酸(cinnamic acid)、香豆素(coumarin)⁽³⁻⁶⁾,及使藥甘草的甘草酸(glycyrrhizin)^(7,8)等藥效或特有成分為指標,利用高效能液相層析儀(HPLC)測定安中散自配製劑和市售品的含量,並探討不同配伍不同炮炙品對整體方劑的影響。

材料與方法

一、藥材及標準品

桂皮、縮砂、玄胡索、良薑、牡蠣、甘草、小茴香

等藥材均購自台北市迪化街藥材行;肉桂酸、肉桂醛、香豆素購自美國 Aldrich 公司;甘草酸購自日本東京化成。桂枝 5.0g 在 $110 \pm 10^\circ\text{C}$ 沙浴中炒 20 分鐘,在乾燥器中放冷,是為桂枝單炒炮炙品。桂枝 10.0g、蜂蜜 5.0g 混勻,在 $110 \pm 10^\circ\text{C}$ 沙浴中炒 20 分鐘,是為桂枝蜜炙品⁽⁹⁾。

二、檢量線之製作

稱取香豆素 0.0012g、肉桂酸 0.0030g、肉桂醛 0.0201g、甘草酸 0.0095g,分別加入 β -naphthol 內標準溶液 10 μl (0.4338g β -naphthol 配成 5ml 乙醇溶液),配成 25ml 乙醇溶液,再將其分別稀釋成 20/25, 16/25, 11/25, 8/25, 5/25, 25/400, 20/400, 15/400, 10/400 後,各取出 5 μl 注入 HPLC,作出檢量線。

三、檢液之配製

按桂枝 4.0、縮砂 1.0、玄胡索 3.0、良薑 0.5、牡蠣 3.0、小茴香 1.5、甘草 1.0 的比例⁽¹⁾,稱取各藥材合計 2.1g 三份,作成三種自配製劑。

(一)水迴流萃取

以 42.0ml 水加熱迴流萃取 30 分鐘,趁熱以六層紗布濾去藥渣,濾液密閉冷卻至室溫後離心 (3000 U/min $\times$ 5min),得澄清液與沈澱兩部分。澄清液加入 10 μl β -naphthol 內標準溶液,以量瓶

配成 50ml, 沈澱則以水/乙醇(1/1)沖洗之, 可溶部分加 10 μ l β -naphthol 內標準溶液, 配成 25ml 溶液。此二份溶液各取 10 μ l 注入 HPLC 分析。

(二)乙醇迴流萃取
以 42.0ml 乙醇加熱迴流萃取, 30 分鐘後取出閉密冷卻至室溫, 離心(3000U/min $\times$ 5min)後取出澄清液, 加 10 μ l 內標準溶液, 配成 50ml 溶液。取 10 μ l 注入 HPLC 分析。

(三)水煎煮至半量
以 42.0ml 水, 一同置入 50ml 錐形瓶加熱沸騰萃取之, 至水剩半量(約 21ml)後密閉放冷至室溫, 離心(3000 U/min $\times$ 5min)後取出澄清液, 加 10 μ l 內標準溶液, 以量瓶配成 25ml, 取出 10 μ l 注入 HPLC 分析。

(四)濃縮浸膏
將水煎煮萃取所得之 25ml 溶液配成 70% 乙醇溶液, 若有沉澱生成則以離心法分離之, 然後將此沈澱以水/乙醇(1/1)沖洗之, 可溶部分加內標準溶液 10 μ l, 配成 25ml 溶液。此二份溶液各取 10 μ l 注入 HPLC 分析。

最後將此 70% 乙醇溶液以迴旋濃縮機濃縮至乾, 再以 25ml 之 70% 乙醇溶解之, 濾去不溶物後, 取 10 μ l 注入 HPLC 分析。

(五)市售製劑
收集市面上所售之三家不同廠出品之製劑, 稱取 0.50g, 並以量管吸取 10.0ml70% 乙醇, 一併置入離心管中, 在 90 $^{\circ}$ C 之油浴中, 加熱迴流 30 分鐘後取出加蓋, 冷卻至室溫, 離心後(3000 U/min $\times$ 5min)取出澄清液加內標準溶液 10 μ l, 以 10.0ml 量瓶配至刻度, 各取 μ l 注入 HPLC 分析。

四、HPLC 分析條件

(一)儀器
泵 :Waters 510 兩個
注射器:Waters U6K
流動相控制器:Waters 680 Automated gradient controller

偵測器: Waters 990 Photodiode array detector, λ = 248 ~ 292nm, 桂枝成分採波長 280nm, 甘草酸採 251nm
分離管柱:Lichrosorb RP - 18(Merck)I. D. 4mm $\times$ 25cm

(二)流動相:以下表梯度沖提程式進行
A - 水/氰甲烷/醋酸 = 200(v)/25(v)/7(v)
B - 水/氰甲烷/甲醇/醋酸 = 60(v)/150(v)/12(v)/5(v)將各指標成分注入, 得到各化合物之滯留時間分別為: 香豆素 20.0 分鐘, 肉桂酸 24.5 分鐘, 肉桂醛 27.5 分鐘, 甘草酸 44.0 分鐘, 內標準品 β -naphthol 46.0 分鐘。

結果與討論

依安中散方劑組成比例稱取全部藥材、減桂枝、及減甘草等三組樣品, 用水萃取注入 HPLC 分析, 尋求最佳分析條件, 再將各指標成分注入, 比對其三度空間層析圖及等高線層析圖, 確認方劑中欲分析之各組成成分後, 再進行下列含量測定。

自配製劑

依處方比例稱取各藥材共 2.1g 三份, 加入溶劑 42.0 ml, 用不同方法萃取, 經 HPLC 定量 (Figure. 1), 結果整理如表一。

表中數據顯示採用不同萃取方法, 各成分之萃出量有很大差異。用水迴流萃取時, 肉桂酸和甘草酸的抽取量最多, 溶液放冷稍有沈澱產生, 但數量不大, 其中沈澱較多的甘草酸亦僅 6.6%。若以乙醇萃取, 則可得到較多的桂枝揮發油成分, 但肉桂酸與甘草酸則較少, 尤其後者僅為水萃取時的 9.5%。若以水煎煮至半量, 則桂枝的精油成分大量減少, 其中香豆素減少 45%, 肉桂醛減少 92%, 而不具揮發性的甘草酸亦減少 59%, 肉桂酸減少 31%。將溶液 C 配成 70% 乙醇溶液, 結果卻使各成分含量略微增加, 推測可能是原本水溶液中的

梯度沖提程式

time(min)	flow rate (ml/min)	%A	%B	curve
0	0.8	100	0	*
5.0	0.85	85	15	linear
15.0	0.9	70	30	linear
50.0	1.3	50	50	linear

Table 1. Assay Results by Using Various Extracting Methods (mg/g)

sample	cou	acid	ald	gly
A	0.609	1.464	6.449	35.85
A ₁	0.020	0.005	0.279	2.38
B	0.685	1.215	10.978	3.40
C	0.336	1.004	0.502	14.84
D	0.256	1.256	0.600	19.32
D ₁	—	0.001	0.012	—
E	0.222	1.021	0.049	16.08

A:Extracting by reflux in water (extract potrion)
A₁:Extracting by reflux in water (ppt portion)
B:Extracting by reflux in ethanol
C:Decoction to half volume
D:Sample C was adjusted to 70% ethanol solution

D₁:ppt in the process of preparing sample D
E:Sample D was concentrated to dryness and then made to 70% ethanol solution
cou:coumarin, acid:cinnamic acid, ald:cinnamaldehyde, gly:glycyrrhizin

Table 2. Assay Resulys of Various Combinations (mg/g)

Sample	cou	acid	ald	gly
Cinnamomi Ramus	0.521	1.461	4.777	—
Glycyrrhizae Radix	—	—	—	39.23
Formula preparation	0.609	1.464	6.449	35.85
Substract Cinnamomi Ramus from the formula	—	—	—	29.88
Substract Glycyrrhizae Radix from the formula	0.584	1.447	5.166	—
Substract Foeniculi Fructus from the formula	0.650	1.482	6.365	37.01
Substract Ostreae Testa from the formula	0.511	1.374	6.455	30.97
Simple baked Cinnamomi Ramus	0.486	1.415	2.499	—
Formula that adds simple baked Cinnamomi Ramus	0.499	1.369	3.630	32.01
Honey baked Cinnamomi Ramus	0.527	1.028	5.032	—
Formula that adds honey baked Cinnamomi Ramus	0.606	1.468	4.662	29.81
Cinnamomi Cortex	4.100	0.803	26.161	—
Founula that adds Cinnamomi Cortex	3.871	0.628	9.720	35.14

少許懸浮膠體，被溶解、稀釋的結果。濃縮至乾，肉桂醛再減少 92%，香豆素減少 13%，而甘草酸、肉桂酸亦有減少。

為探討各藥材間的相互關係，依處方比例每次減去或置換一種藥材，以水迴流萃取，用 HPLC 定量，結果如表二。

表二數據顯示，每克桂枝、甘草單獨用水煎煮可抽出香豆素 0.521mg，肉桂酸 1.461mg，肉桂醛 4.777mg，及甘草酸 39.23mg。當配合其他藥材做成安中散煎劑時，水溶性較佳的肉桂酸和甘草酸

變化不大，但水溶性差的肉桂醛則增加 35%，香豆素增加 17%；將桂枝換成桂皮，則方劑的整體綜合結果有明顯改變，製劑中的各成分含量皆遠低於桂皮藥材單獨煎煮者，其中香豆素減少 5.6%，肉桂酸減少 21.8%，肉桂醛減少 62.8%；比較添加桂枝和桂皮的兩組煎劑數據，發現使用桂皮者有較高的香豆素(6.4 倍)和肉桂醛(1.5 倍)含量，但肉桂酸則較少(0.4 倍)。傳統上，桂枝與桂皮之功能不同，桂枝能發汗解表、溫通經脈、通陽化氣⁽³⁾，桂皮則在補元陽、暖脾胃、除積冷、通血

脈⁽¹⁰⁾,各自添加於方劑中有不同分析結果,是否表示藥理上亦有差異值得探討。

依處方組成減去某一特定藥材(兩次平均值),發現各指標成分含量與全方劑比較,除甘草酸與肉桂醛外,幾無差異。其中減去桂枝時,甘草酸減少 16.7%,減去甘草時,香豆素減少 4.1%,肉桂酸減少 1.2%,肉桂醛減少 19.9%;減去小茴香則除肉桂醛稍減外(減少 1.3%)外,其餘成分均見增加,分別為香豆素增加 6.7%,肉桂酸增加 1.2%,甘草酸增加 3.2%;而減去牡蠣則見甘草酸、肉桂酸減少,肉桂醛增加。

桂枝的精油是其主要藥理活性成分,經火炙處理後,大多明顯降低。桂枝的單炒炮炙品之香豆素、肉桂酸略減,但肉桂醛只有原藥材的一半,將它與其他安中散藥材共煮,則見肉桂醛抽出量較桂枝單炒品本身單獨煎煮時為高;桂枝與蜂蜜混勻再加熱炒炙後,用水煎煮時則見香豆素、肉桂醛增加,肉桂酸減少,添加其他藥材煮成安中散時,

除肉桂醛、甘草酸略減外,其他與原方劑相近。

另外在方劑中添加牡蠣通常有改變溶液酸鹼度的效果,究竟對於藥效成分的萃取量有無影響,本研究也一併探討。結果整理如表三。

由表中可發現,牡蠣的用量會改變整個水萃取液的 pH 值,而對方劑成分含量的影響,則以酸類最為顯著。

整體而言,我們看到方劑的配伍、煎煮方式、藥材的選用、數量之斟酌,均會影響整體方劑成分的抽出量與相互比例。

市售製劑

收集市面所售三家不同廠出品的安中散製劑,發現有的廠牌以桂皮代替桂枝,且其與甘草在方劑粉末中所佔的比例不盡相同。定量分析時各稱取 0.500g 製劑粉末,以 10.0ml 的 70% 乙醇為溶劑萃取、定量分析,結果如表四。

Table 3. Effect of Changing the Amount of Ostreae Testa (mg/g)

Amount (g)	pH	cou	acid	ald	gly
0	5.46	0.511	1.374	6.455	30.97
0.15	6.87	0.575	1.457	6.115	35.70
0.30	7.01	0.592	1.466	6.588	35.97
0.45*	7.35	0.609	1.464	6.449	35.85
0.60	7.40	0.510	1.466	6.275	36.11

* Amount used in the Cardamon and Fennel founmula

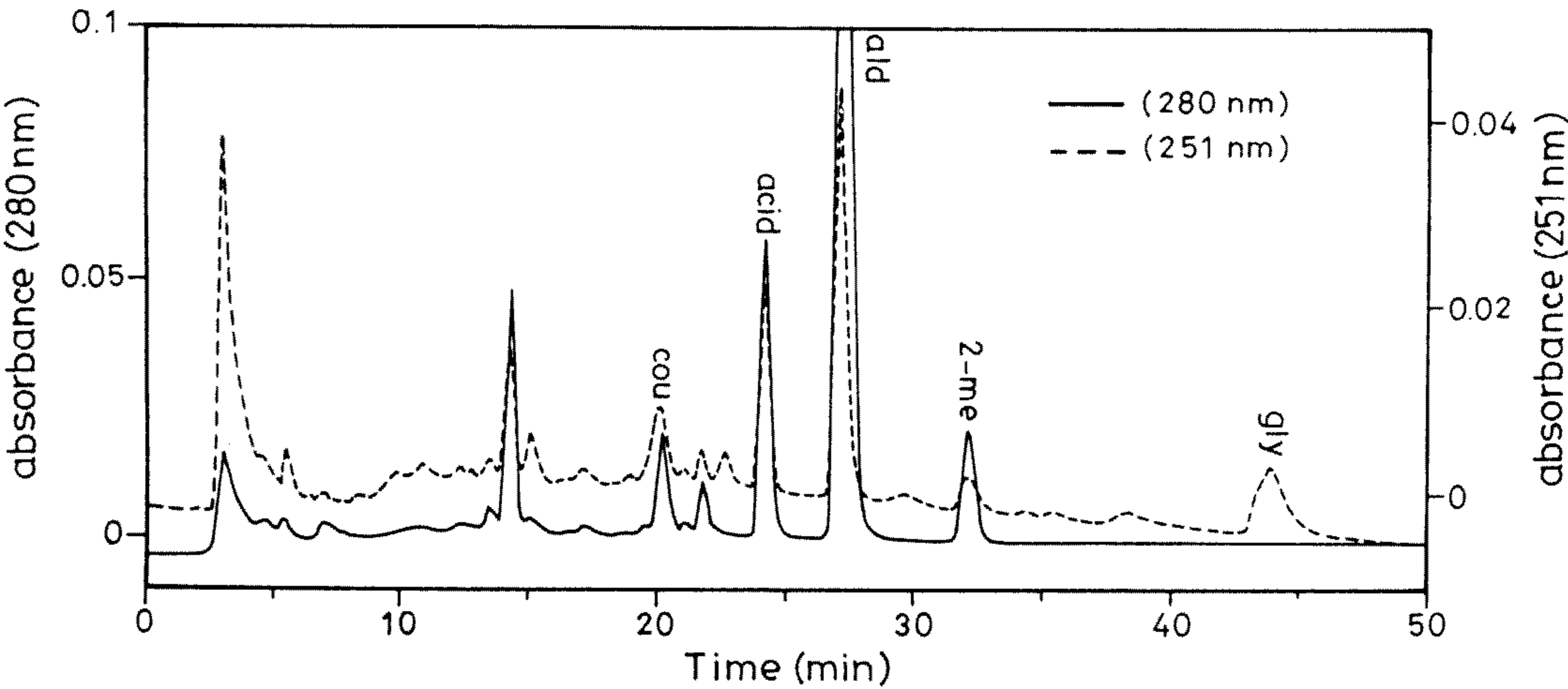


Figure 1. HPLC chromatogram of the water extract of Cardamon and Fennel Formula.

Tabel 4. Assay Results of the Commercial Preparations (mg/g preparation *)

Sample	cou	acid	ald	gly
Commercial sample A	0.196	0.181	1.883	20.32
Commercial sample B	0.149	0.128	0.223	7.86
Commercial sample C	0.224	0.101	0.939	12.96

*以市售科學中藥製劑克數直接計算
若將其換算成一日量(即服用 6g)與一帖自配湯劑、自製濃縮浸膏的含量比較,結果如下:
(mg/ daily dose)

Sample	cou	acid	ald	gly
Commercial sample A	1.176	1.086	11.298	121.92
Commercial sample B	0.894	0.768	1.338	47.16
Commercial sample C	1.344	0.606	5.643	77.76
Extract of home – made preparation (containing Cinnamomi Ramus)	2.436	5.856	25.796	35.85
Extract of home – made preparation (containing Cinnamomi Cortex)	15.484	2.512	38.880	35.14
Condensed extract (containing Cinnamomi Ramus)	0.888	4.084	0.196	16.08

由表中數據可以看出,市售安中散的肉桂醛和甘草酸均遠高於自製的濃縮浸膏,肉桂醛為自製浸膏的 6.8 至 57.6 倍,甘草酸為 2.9 至 7.6 倍,香豆素兩者很接近,但肉桂酸則只有自製浸膏的 3/20 至 1/4,顯示中藥製作在選用藥材、添加份量、製作過程等方面均有值得注意與深入探討的必要。

誌 謝

本研究承蒙行政院衛生署經費支助,特表謝意。

參考文獻

1.許鴻源,許照信.1985.常用漢方方劑圖解.第三版.pp.303-305.新醫藥出版社.台北.
2.Zhu, Z., Feng, Y., Fang, H., Liu, G., Li, N., Hu, Q., Chen, H. and Wang, Y. 1985. Source Utilization of Macrophyllous Cassia Bark Tree (Cinnamomum cassia var macrophyllum) and

Its Comparison with Indigenous Cassia Bark Tree (C. cassia) of China. Zhongcaoyao. 16(7): 316-320;1985.Chem. Abstr.103:166005a.
3.許鴻源,陳玉盤,許順吉,許照信,陳建志,張憲昌.1985.簡明藥材學.pp.29-30.新醫藥出版社.台北.
4.Yuan, A., Tan, L, Wei, S., Kang, S. and Jiang, D. 1984. Chemical Constituents of Gui Zhi (Cinnamomum cassia), A traditional Chinese Medicine. Zhongyao Tongbao, 9(3):127-128; 1984.Chem. Abstr. 101:60030a.
5.Sagara, K., Oshima, T., Yoshida, T., Tong. Y., Zhang, G. and Chen, Y. 1987. Determinations in Cinnamomi Cortex by High-performance Liquid Chromatography. J. Chromatogr. 409:365-370.
6.Archer, A. W. 1988. Determination of Cinnamaldehyde, Coumarin and Cinnamyl Alcohol in Cinnamon and Cassia by High-performance Liquid Chromatography. J. Chromatogr. 447:

- 272 – 276.
7. 林景彬. 1985. 常用中藥藥理與應用. pp. 439 – 449. 中國醫藥學院. 台中.
8. 許鴻源. 1980. 中藥材之研究. pp. 127 – 130. 新醫藥出版社. 台北.
9. 許鴻源. 1980. 中藥之炮炙. pp. 606 – 607. 新醫藥出版社. 台北.
10. 許鴻源, 陳玉盤, 許順吉, 許照信, 陳建志, 張憲昌. 1985. 簡明藥材學. pp. 286 – 287. 新醫藥出版社. 台北.

Quantitative Analysis of Cardamon and Fennel Combination

LIH-CHING CHANG AND SHUENN-JYI SHEU

Department of Chemistry, National Taiwan Normal University

ABSTRACT

A Cardamon and Fennel combination is a traditional Chinese herbal formula for treating chi and blood – associated pricking pain. The formula is composed of Cinnamomi Ramus, Amomi Semen, Corydalis Tuber, Alpiniae Officinari Rhizoma, Ostreae Testa, Glycyrrhizae Radix, and Foeniculi Fructus. With the aid of high – performance liquid chromatography, we used cinnamaldehyde, coumarin, cinnamic acid (from the imperial component herb Cinnamomi Ramus), and glycyrrhizin (from the servant component herb Glycyrrhizae Radix) as the indicative constituents for the assessment of the quality of Chinese herb preparations and also for investigating the influences of different herb combinations, different doses, and different processed samples to the whole formula. Experimental data showed that when boiled in water, the formula yielded very little essential oil extract which, after concentration, this resulted in loss of more oil. Extractives of coumarin and cinnamaldehyde from Cardamon

and Fennel combination which contains Cinnamomi Ramus were higher than from Cinnamomi Ramus decocted alone. The addition of Cinnamomi Cortex produced a contrary effect. Both preparations gave rise to greatly different results. The addition of Ostreae Testa changed the solution's pH value and promoted the excretion yields of cinnamic acid and glycyrrhizin. Absence of Glycyrrhizae Radix or Cinnamomi Ramus caused reduction in the individual indicative constituents. Whereas, subtracting Foeniculi Fructus from the formula resulted in a marked increase in the extractives of the various constituents, and the addition of processed Cinnamomi Ramus produced a comprehensive influence of the chemical constituents. Differences in the drug materials selected, component combinations, and manufacturing processes produced marked differences in the constituent yields. Hence, there is a great difference found between commercial herbal products and laboratory – made counterparts.

Key words : Chinese herb preparations, Cardamon and Fennel combination, quantitative analysis.

