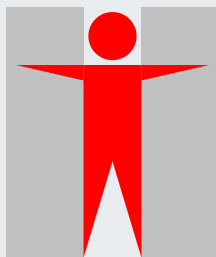


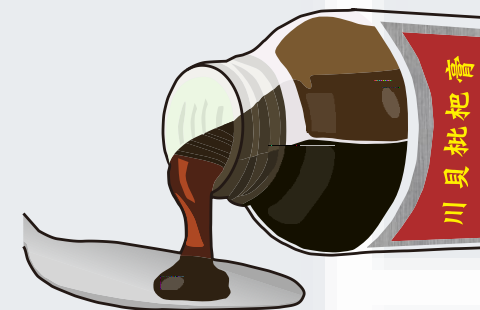
內服中成藥中藥材指標成分的分析 枇杷膏

網上分享會

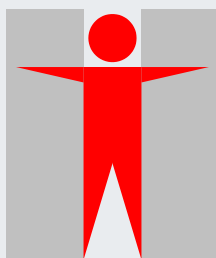
2022年5月20日



項目建立



- 中心諮詢委員會會議
 - 檢測中心諮詢委員會提出**枇杷膏**基質複雜，較常出現檢測困難的情況
 - 原因：
 - 糖份高
 - 由多種藥材煎熬而成
 - 一部份中藥含量較低
- 經委員會會議商討後將**枇杷膏**訂為首個產品研究目標



項目建立

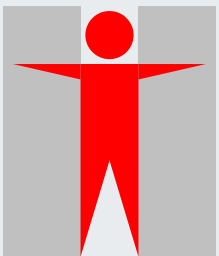
- 初步構思

- 調查枇杷膏產品在香港市場的情況
- 研究枇杷膏製作工藝及檢測方法
- 開發枇杷膏中的化學指標成分定量及定性的檢測方法



- 計劃目的

- 為業界提供的分析方法作參考
- 作為質量控制方法，從而減少中藥商在建立及確認方法的投資
- 加強業界對產品品質的控制，藉此建立香港中藥品牌形象

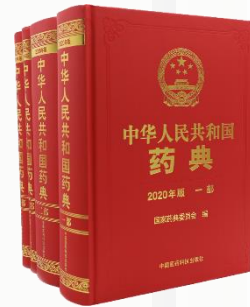


項目建立

- 資料搜集

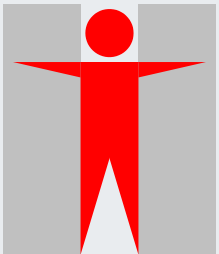
- 中國藥典 2020

- 川貝枇杷膏 ✗
 - 川貝枇杷糖漿 ✓
 - 川貝枇杷露 ✓
 - 強力枇杷膏 ✓



- 中藥材成分

- 川貝枇杷糖漿 - 川貝母流浸膏、枇杷葉、桔梗、薄荷腦
 - 川貝枇杷露 - 川貝母、枇杷葉、桔梗、薄荷腦、百部、前胡
 - 強力枇杷膏 - 枇杷葉、桔梗、薄荷腦、百部、罌粟殼、白前、桑白皮

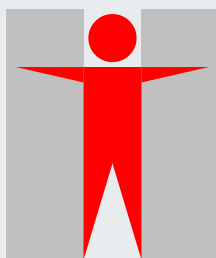
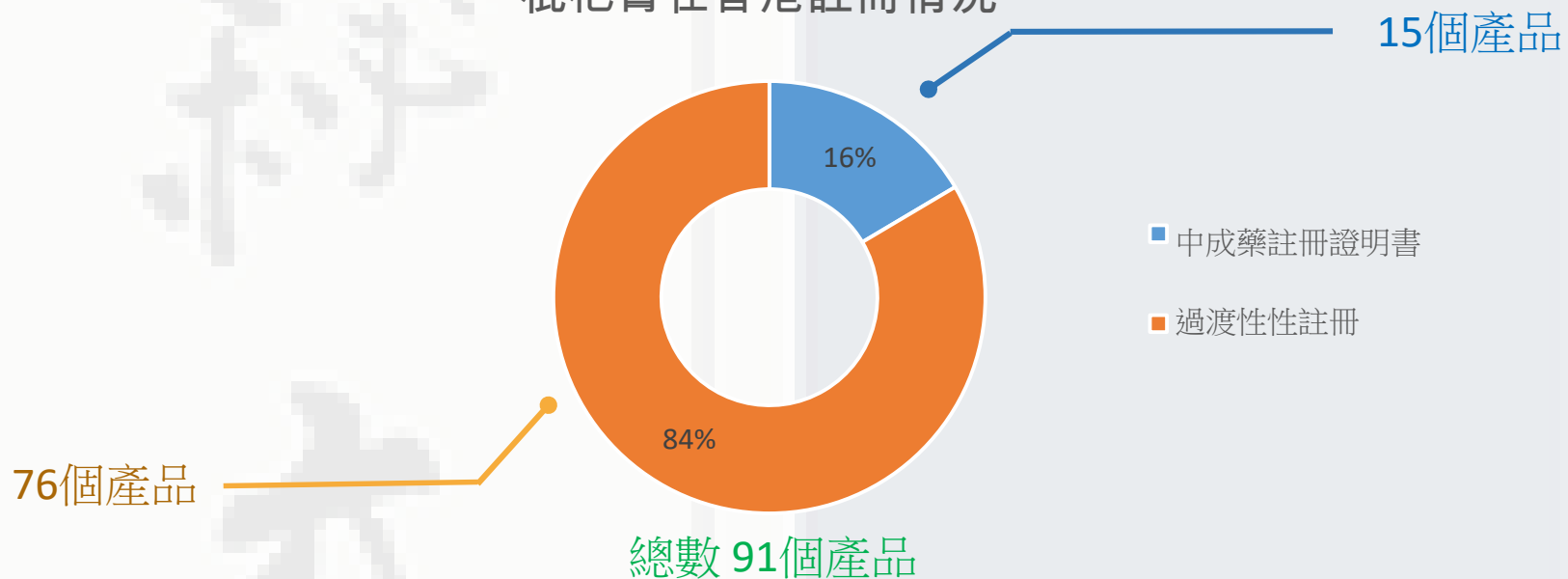


項目建立

- 資料搜集
 - 香港川貝枇杷膏市場上狀況
- 中成藥註冊證明書



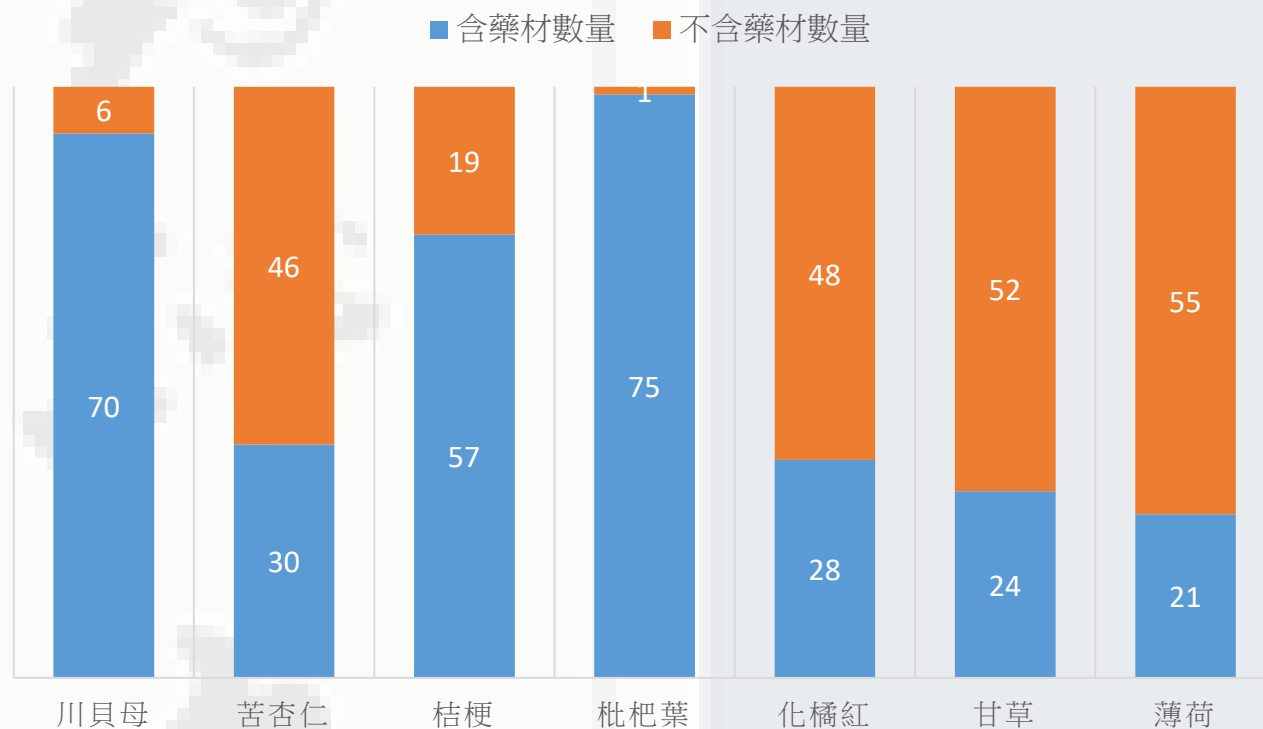
枇杷膏在香港註冊情況



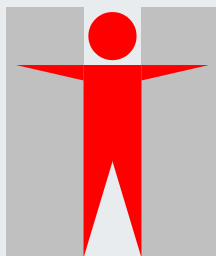
項目建立

- 資料搜集

中藥材數量在香港市場上枇杷膏的分佈



總數 76個過渡性註冊產品



中成藥註冊要求

- **一般資料**-公司負責人的資料 生產地及銷售證明文件等
- **安全性資料**-重金屬 農藥殘留量 微生物限度的測試報告
- **成效性參考資料**-調整組方 原則及方解的撰寫人要求
- **品質性資料**-調整品質標準 化驗報告及穩定性試驗報告的技術要求



中成藥註冊要求

- 品質性資料—調整品質標準 化驗報告及穩定性試驗報告的技術要求
 - 品質標準、化驗方法及化驗報告
 - 「鑒別」「含量測定」
 - 須為產品的品質標準訂立最少一個鑒別項目及最少一個含量測定項目，並應為產品的鑒別及含量測定項目選擇不同的成分
 - 方法學考察的要求若有關的測定方法屬自行建立的研究方法，申請人應闡明其方法的原理並提供有關參考資料，當中應包括方法學的考察（method validation）等；及方法學考察報告須包括陰性對照測試，若申請人或化驗所在過往制定的方法中沒有進行陰性對照測試，則須補做陰性對照測試以證明有關化驗方法的專屬性。



項目建立

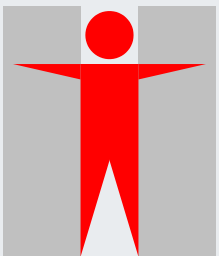
- 方法建立方向
 - 建立及確認定性及/或定量分析方法
 - 檢測君臣藥或最常見的中藥材中化學指標成分

高效液相/氣相色譜質譜儀

- 檢測限較低
- 靈敏度較高
- 不容易受基質干擾
- 前置及清理步驟較短
- 以儀器為主導
- 檢測時間較短
- 儀器價錢較貴

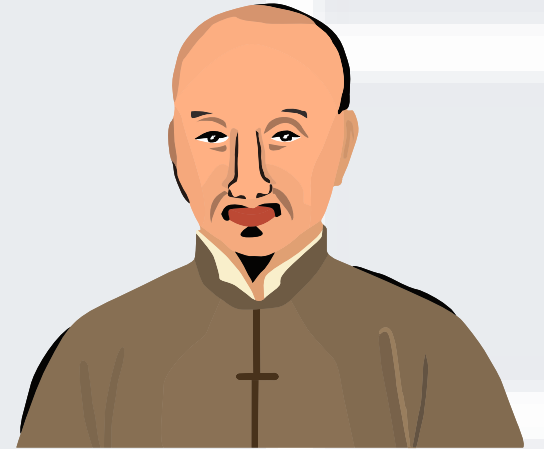
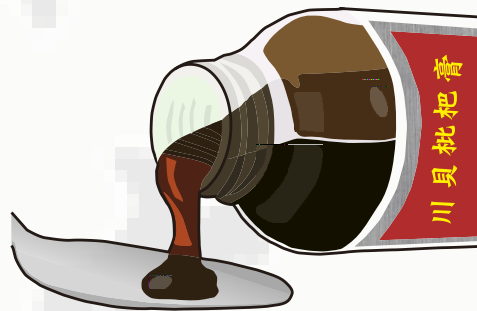
高效液相色譜二極管陣列檢測器 氣相色譜火焰電離檢測器

- 檢測限較高
- 靈敏度較低
- 容易受基質干擾
- 前置及清理步驟較長
- 以人手為主導
- 檢測時間較長
- 儀器價錢較便宜

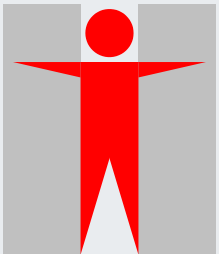


枇杷膏的由來

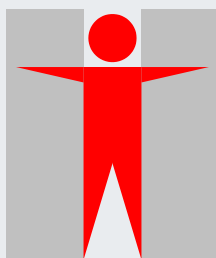
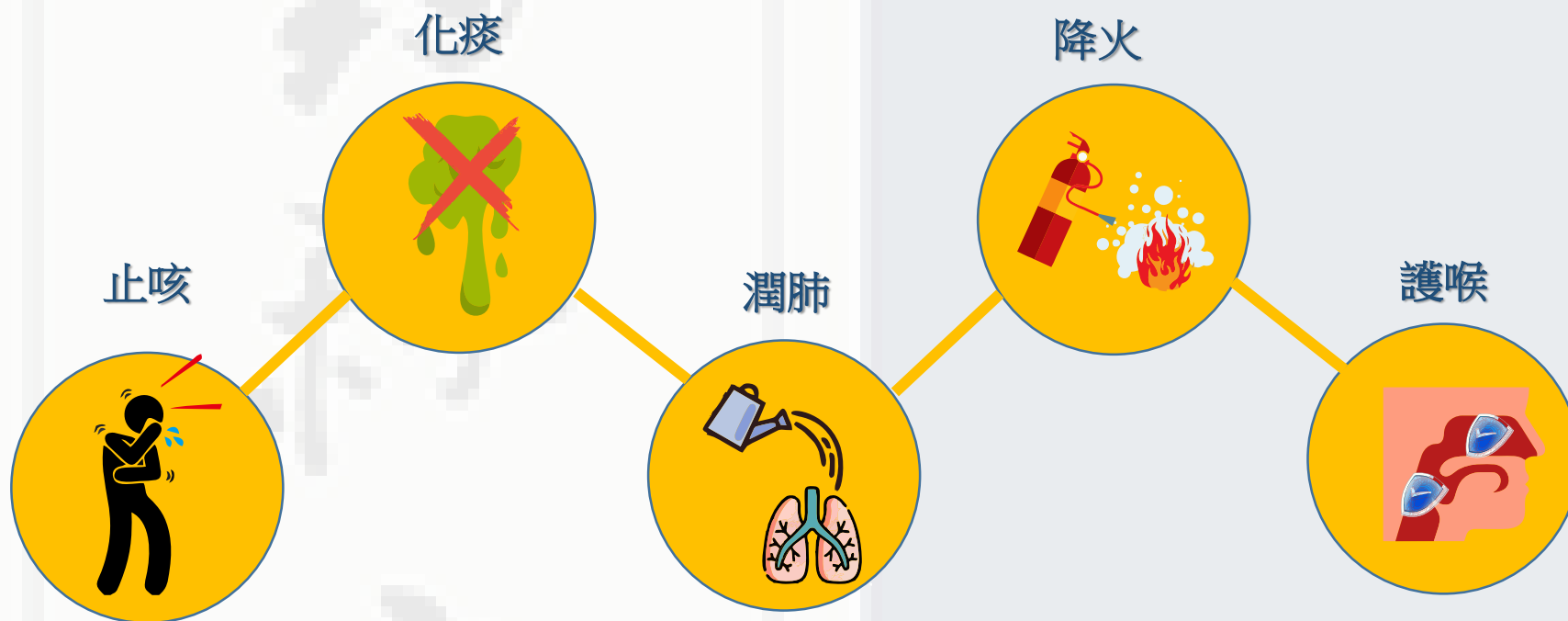
- 清代縣令楊謹侍母至孝，他的娘親久病未癒，
- 楊孝廉遍訪名醫未奏效，後來，他聽聞神醫**葉天士**，攀山涉水期望葉天士幫他的娘親診治，
- 於是葉天士以祖傳秘方，終治好楊老太的久咳、痰多宿疾



葉天士



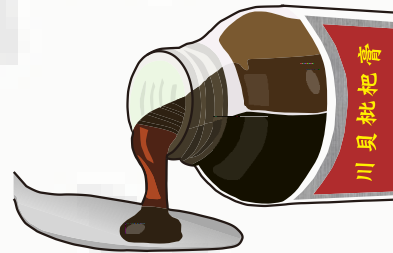
枇杷膏的功效



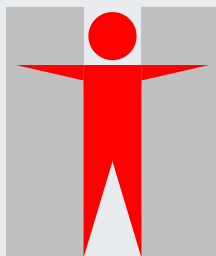
枇杷膏的現況



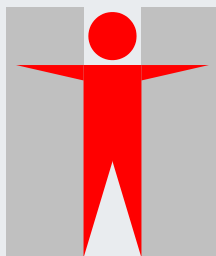
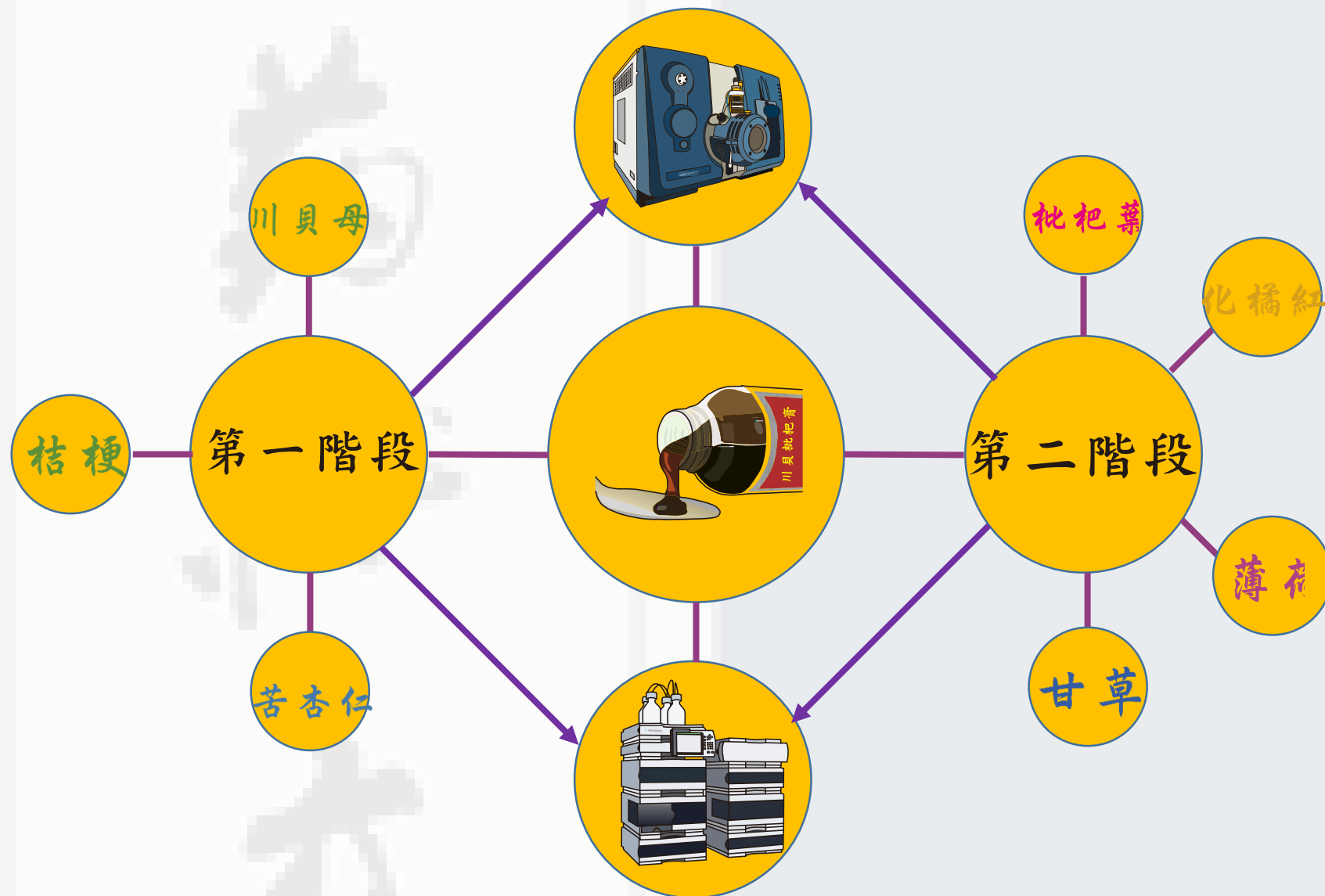
- 2018年枇杷膏登上《華爾街日報》
- 一名建築師兼設計教授 Alex Schweder 怒推這款「草藥糖漿」。他表示自己生病 super sick 兼狂咳逾 10 天未見好轉。其女友在 30 年前旅居香港時得知川貝枇杷膏的「神效」，便推薦給 Alex Schweder 服用。Alex Schweder 吃了川貝枇杷膏後 15 分鐘，病情立即好轉。



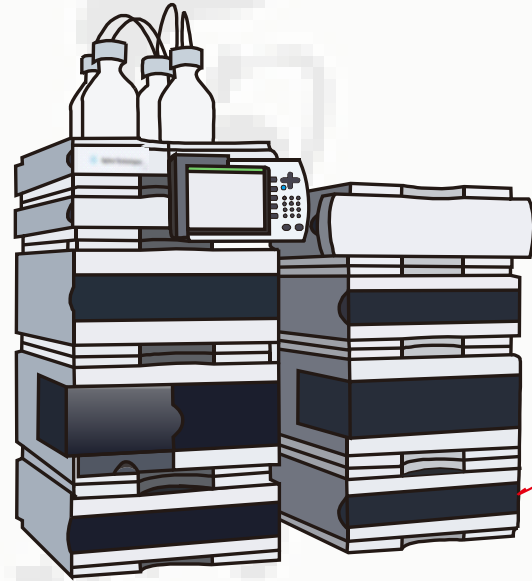
枇杷膏的主要藥材



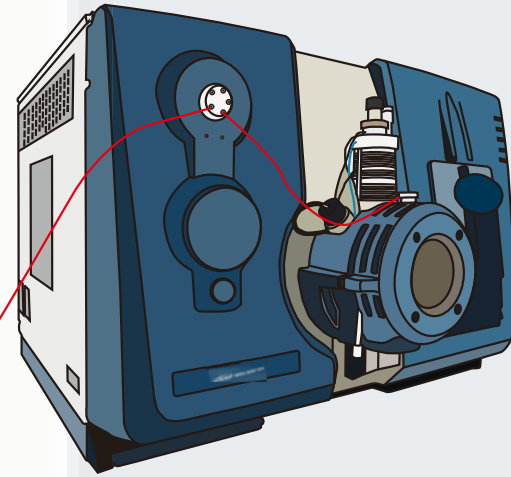
分析計劃



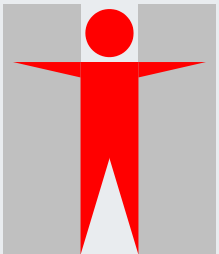
高效液相色譜串聯質譜儀 (HPLC-MS/MS)



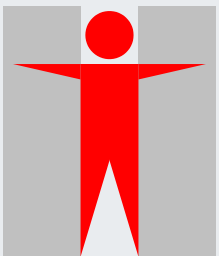
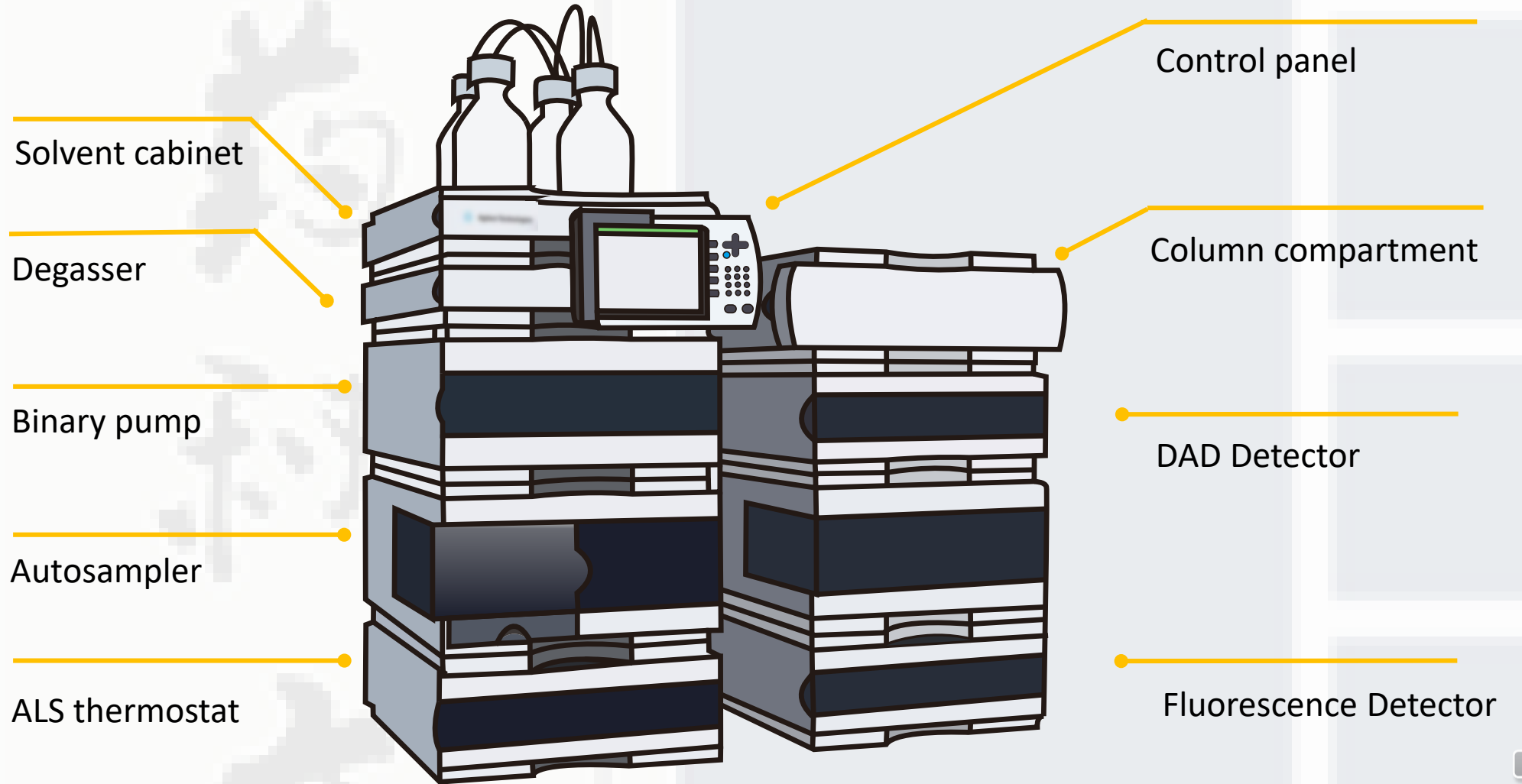
高效液相色譜儀



質譜儀



高效液相色譜儀 (HPLC)



高效液相色譜儀 (HPLC)

Data Processing station

Binary pump

Degasser

Detector

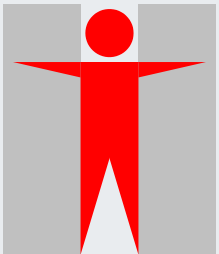
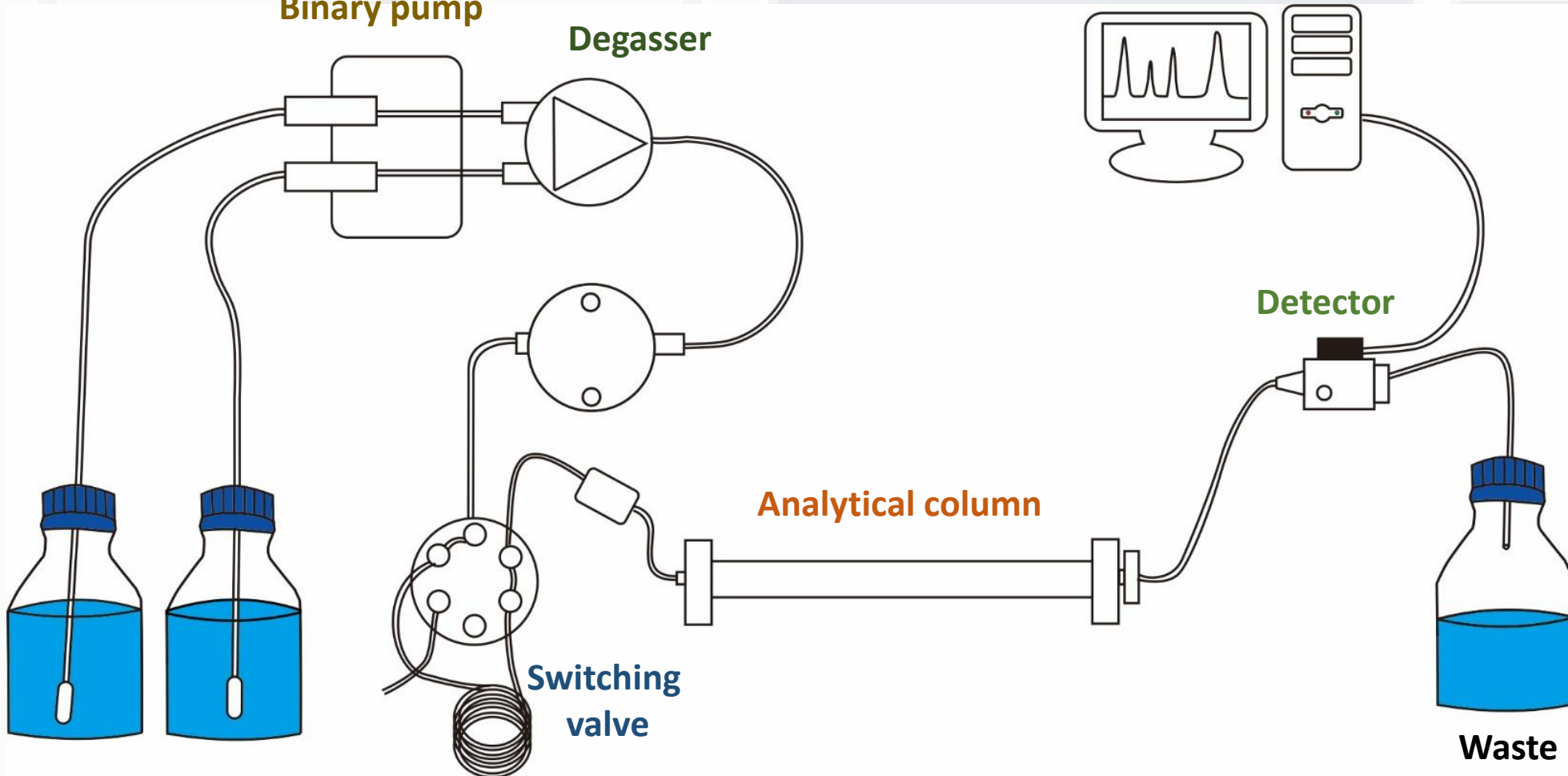
Analytical column

Switching valve

Waste

Pump OFF

Solvent cabinet



高效液相色譜儀 (HPLC)

Data Processing station

Binary pump

Degasser

Detector

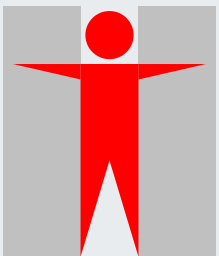
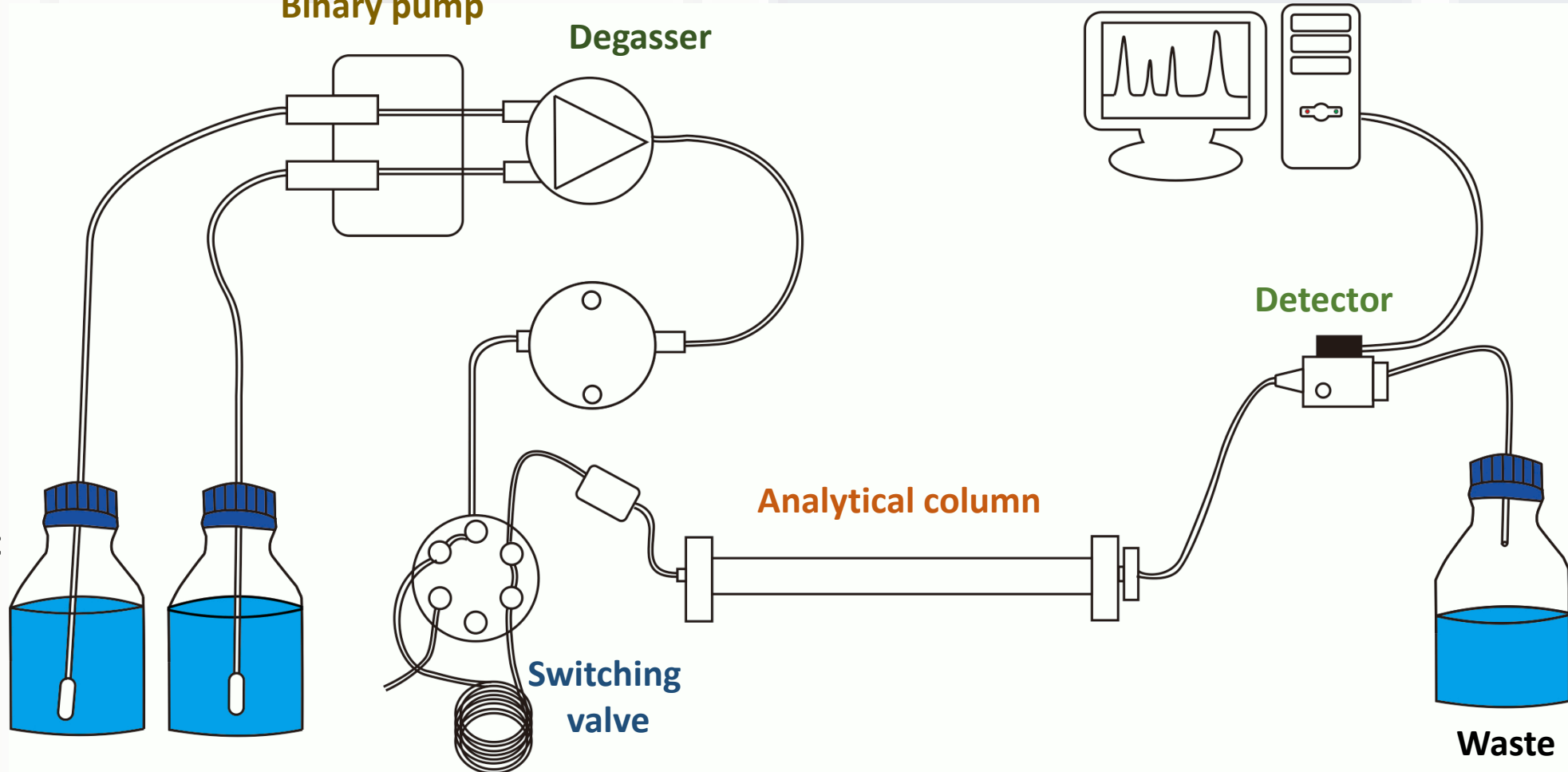
Analytical column

Switching valve

Waste

Pump ON

Solvent cabinet



高效液相色譜儀 (HPLC)

Data Processing station

Binary pump

Degasser

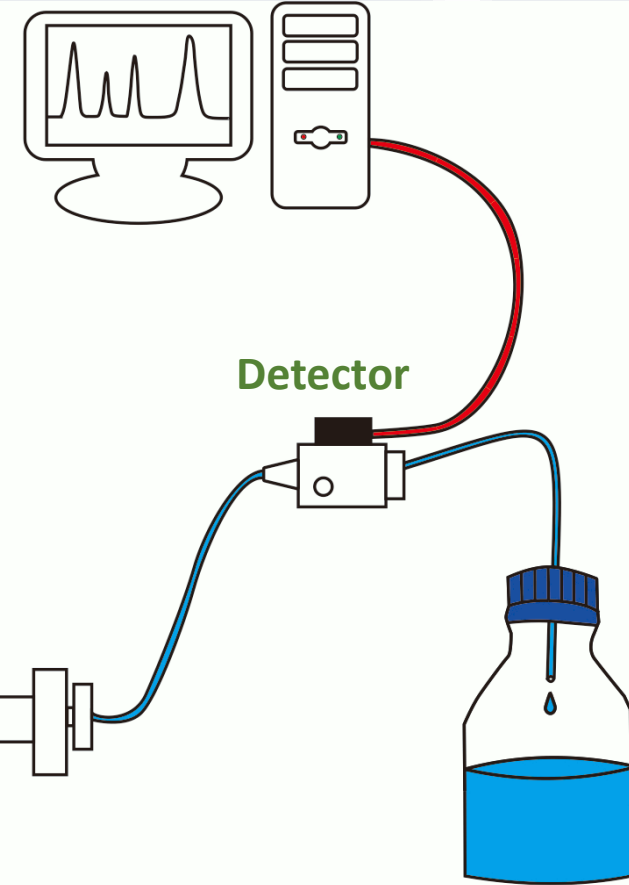
Detector

Analytical column

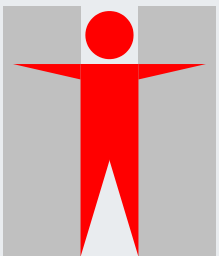
Switching valve

Waste

Pump ON



Solvent cabinet



高效液相色譜儀 (HPLC)

Data Processing station

Binary pump

Degasser

Detector

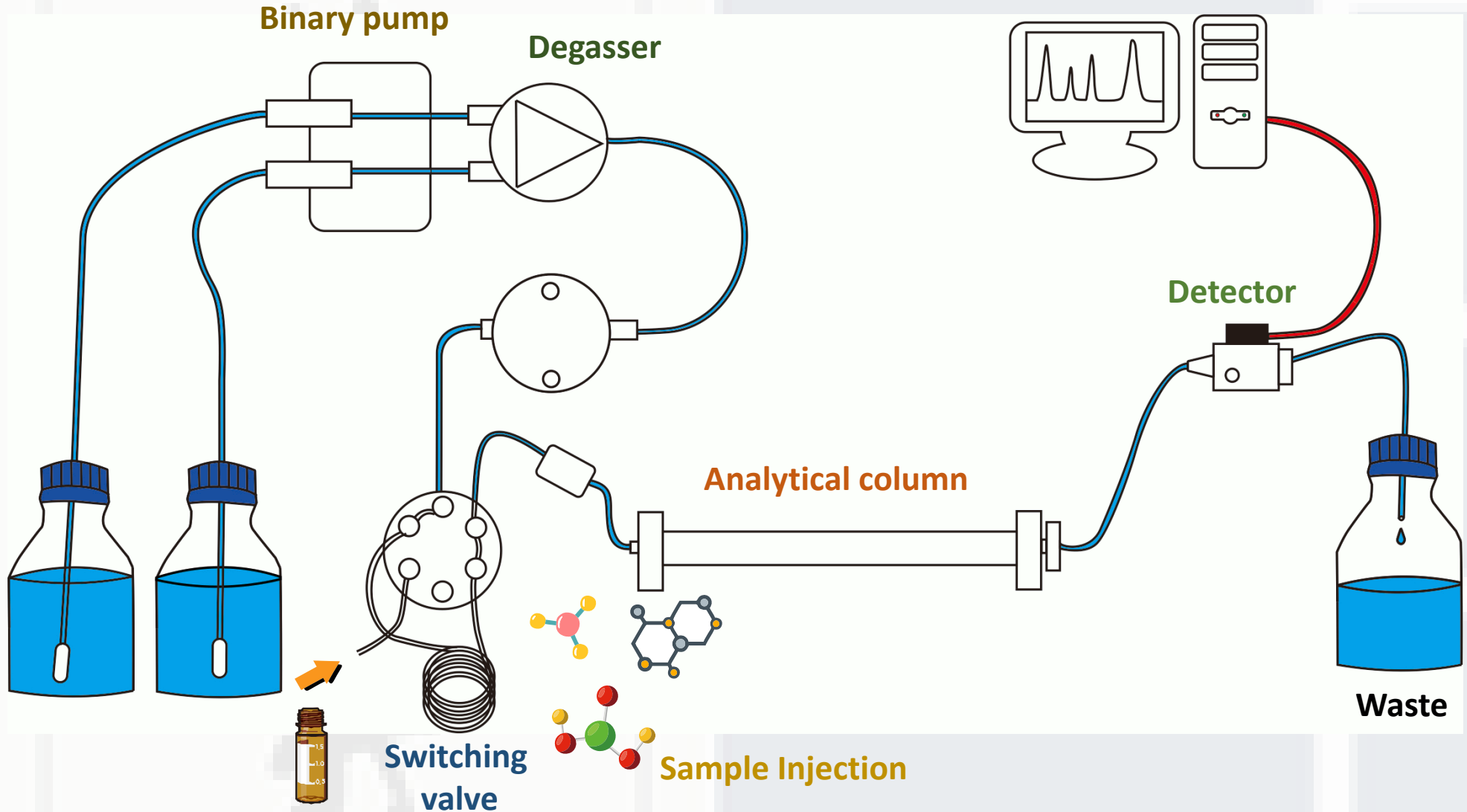
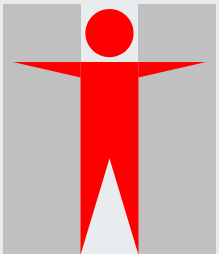
Analytical column

Waste

Switching valve

Sample Injection

Solvent cabinet



高效液相色譜儀 (HPLC)

Data Processing station

Binary pump

Degasser

Detector

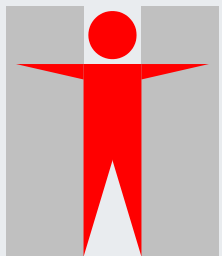
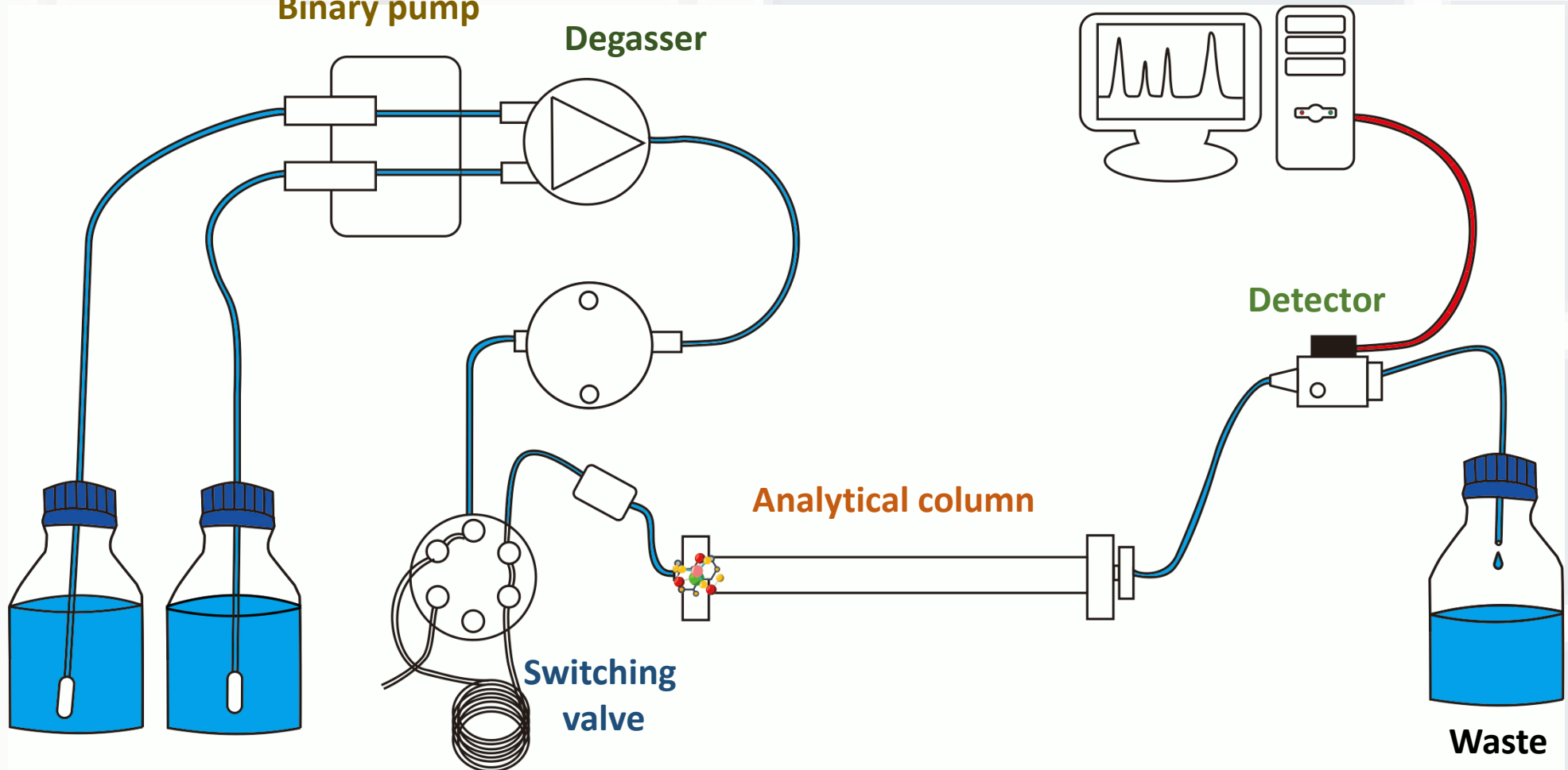
Analytical column

Switching valve

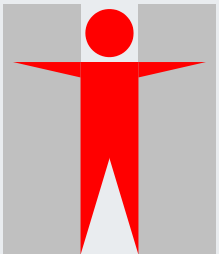
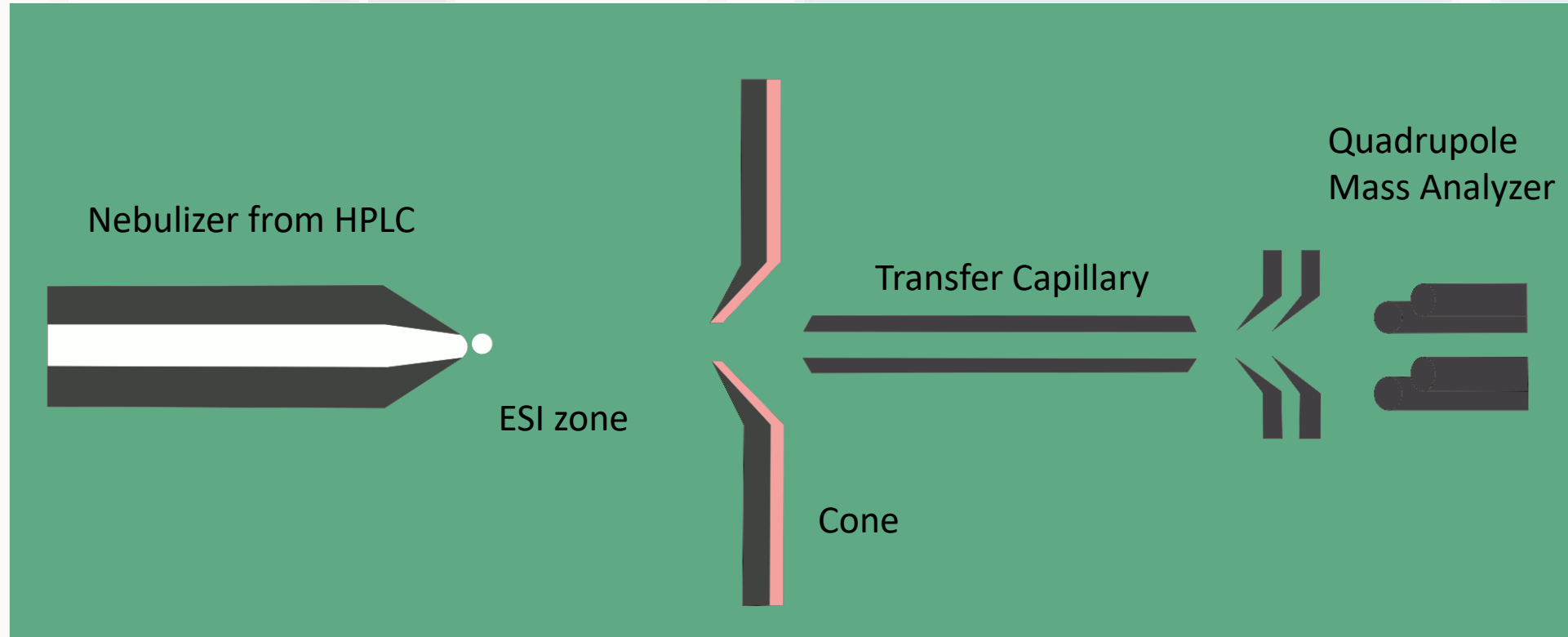
Waste

Analyzing

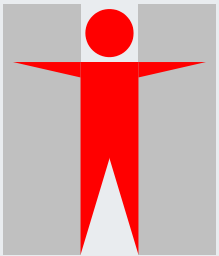
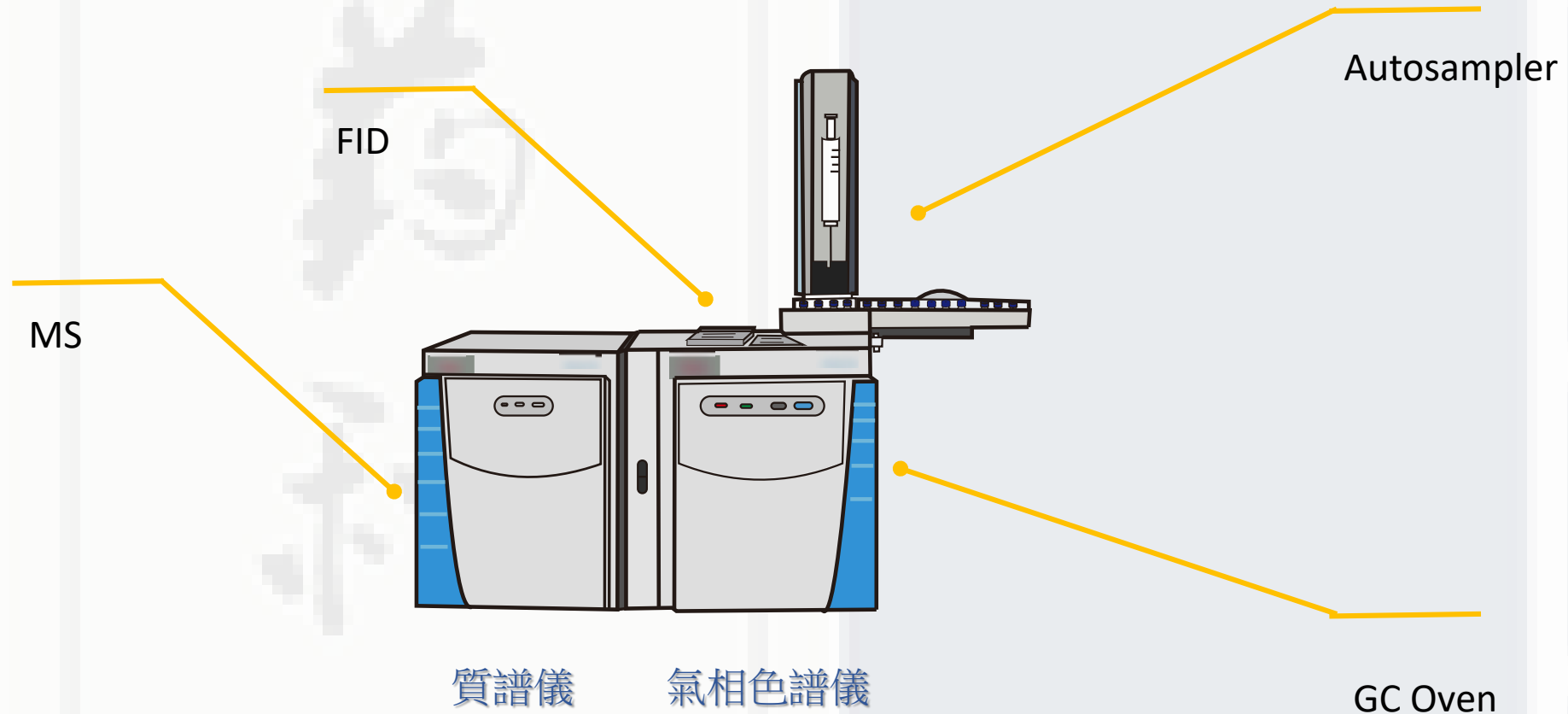
Solvent cabinet



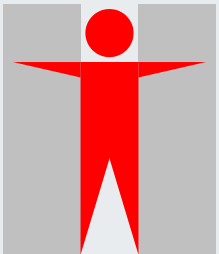
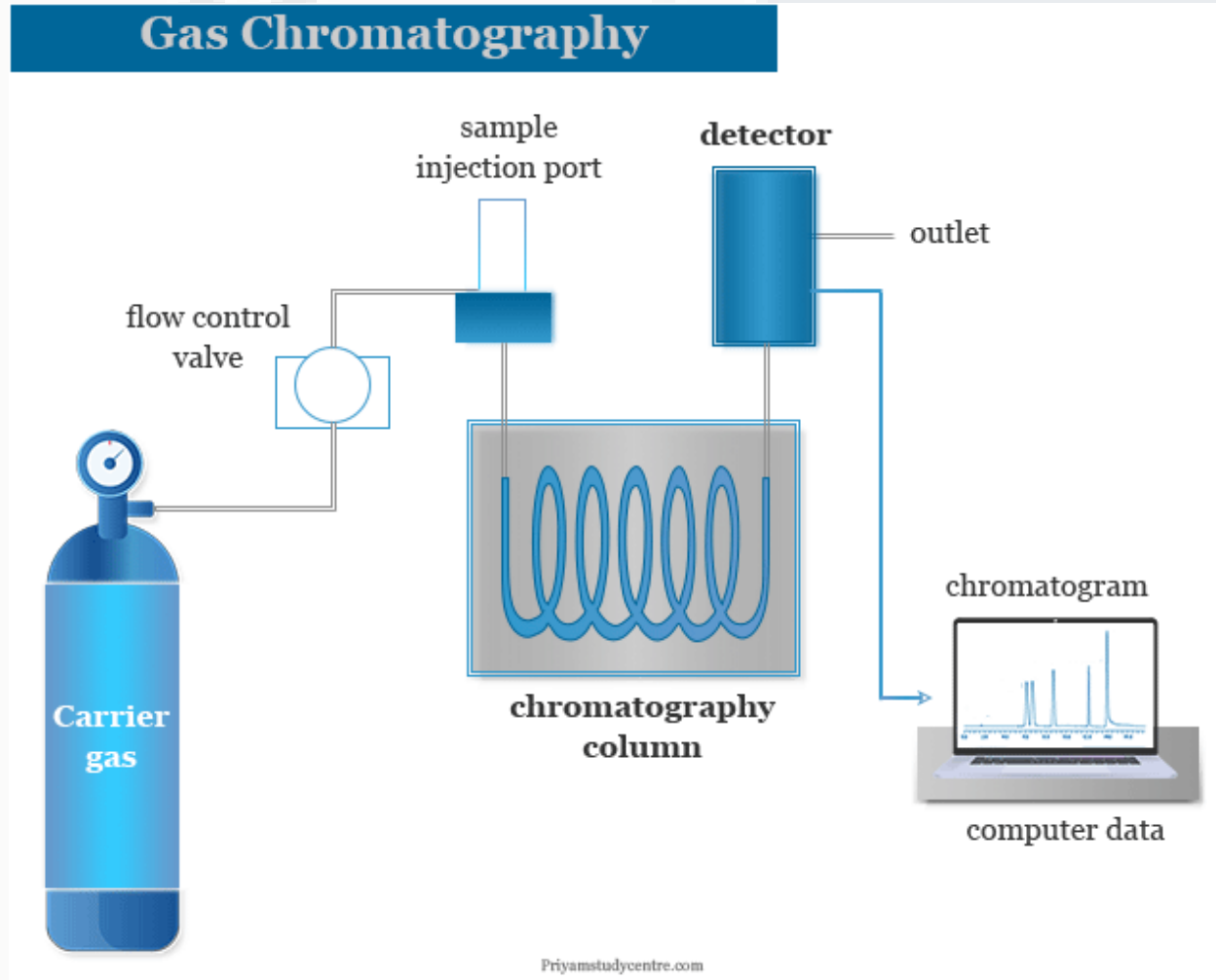
電噴霧離子化(ESI)原理



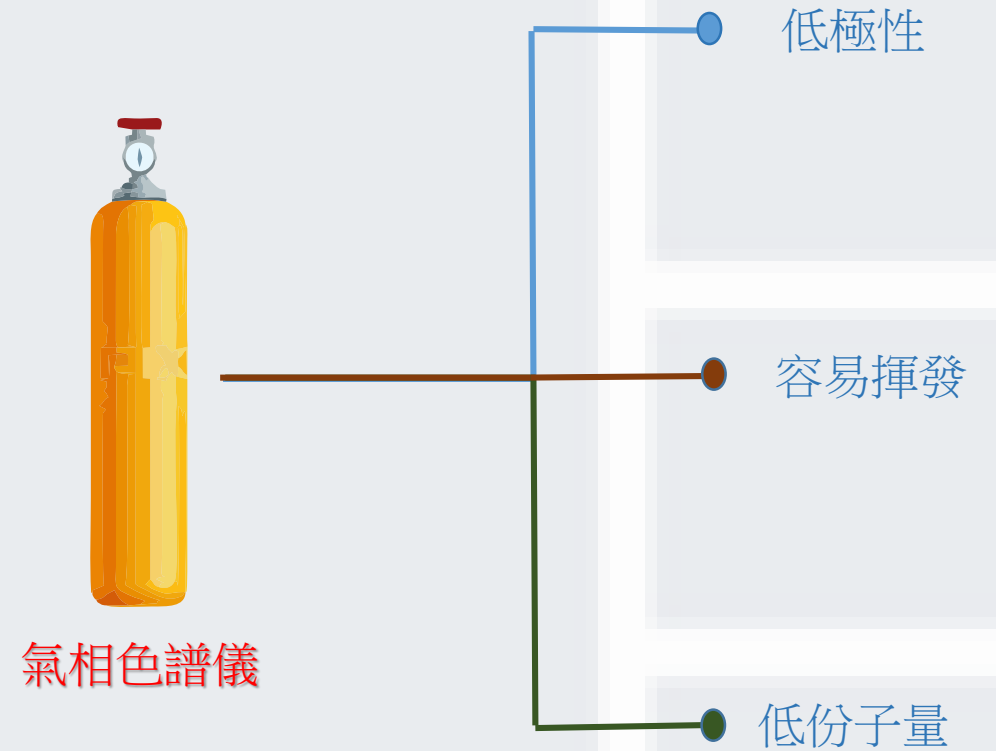
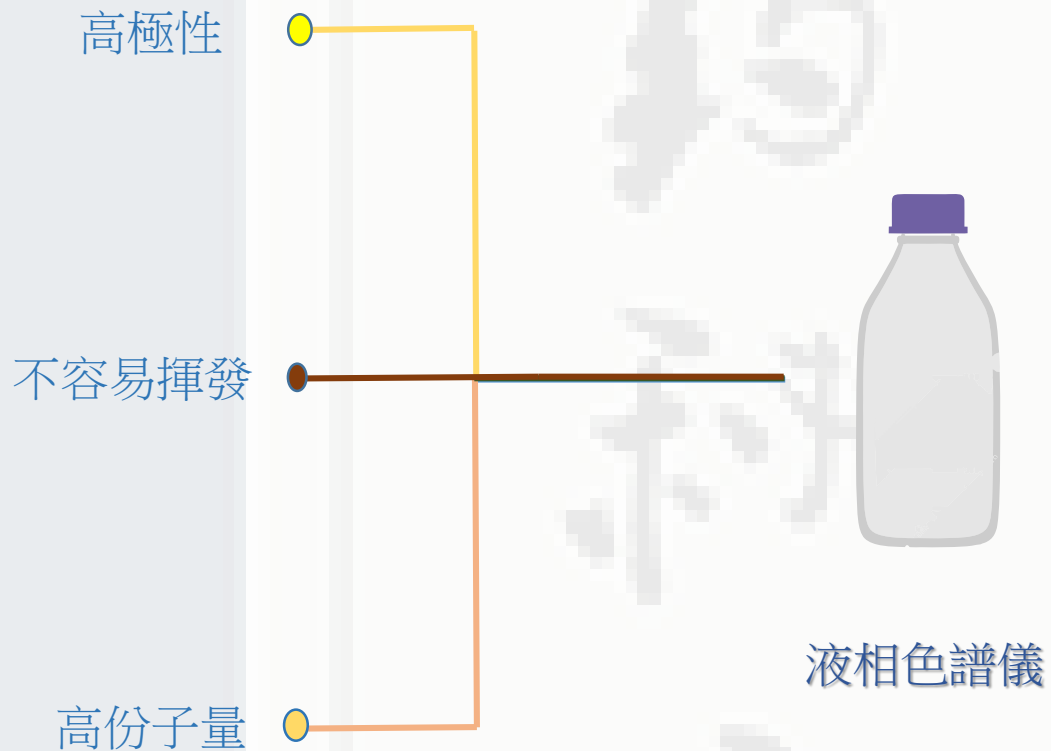
氣相色譜儀 (GC-FID and GC-MS)



氣相色譜儀 (GC-FID and GC-MS)



液相色譜儀 VS 氣相色譜儀(LC vs GC)



檢測器



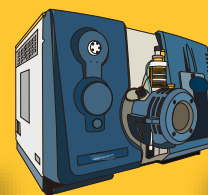
FID

- 有機化合物進入以氫氣和氧氣燃燒的火焰，在高溫下產生化學電離
- 適用於有機化合物
- 只可配備氣相色譜儀



UV-DAD

- 分子吸收光譜學
- 發色團 - 化合物的不飽和的官能基會吸收紫外光或可見光
- 適用於有發色團的分子
- 只可配備液相色譜儀



MS

- 量度帶電離子的質荷比
- 適用於大部份的分子
- 可配備液相及氣相色譜儀



第一階段工作



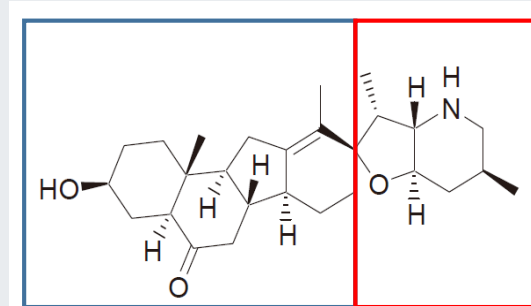
川貝母中的指標成分的分析



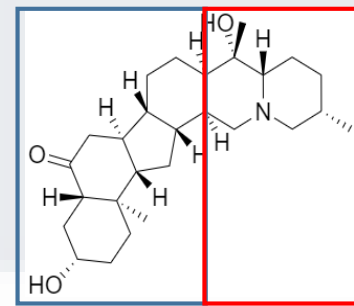
川貝母 太白貝母 暗紫貝母 瓦布貝母 梭砂貝母 甘肅貝母

<p>類型</p> <p>百合科植物的川貝干燥鱗莖</p>	<p>功效</p> <ul style="list-style-type: none"> 清熱潤肺 化痰止咳 	<p>性狀</p> <ul style="list-style-type: none"> 圓錐形或近球 外層鱗葉2瓣 大瓣緊抱小瓣 懷中抱月 	<p>指標成分</p> <ul style="list-style-type: none"> 貝母辛 貝母素乙

指標成分類型 (Chemical markers classification)
甾體類生物鹼 (Steroidal-alkaloids)



貝母辛
Peimisine



貝母素乙
Peiminine

川貝母中的指標成分的分析



- 分析甾體類生物鹼 (Steroidal-alkaloids)

高檢測限

沒有紫外線發色團

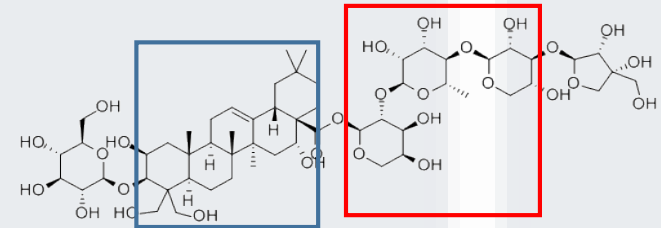
有官能基NH



桔梗中的指標成分的分析

<p>類型</p> <p>桔梗科植物桔梗的干燥根</p>	<p>功效</p> <ul style="list-style-type: none"> • 宣肺利咽 • 祛痰，排膿 	<p>性狀</p> <ul style="list-style-type: none"> • 呈圓柱形或略呈紡錘形 • 下部漸細 • 略扭曲 • 表面淡黃白色 	<p>指標成分</p> <ul style="list-style-type: none"> • 桔梗皂苷 D

指標成分類型 (Chemical markers classification)
三萜類皂苷 (Triterpenoid saponin)





桔梗皂苷 D
Platycodin d

分析三萜類皂苷 (Triterpenoid saponin)

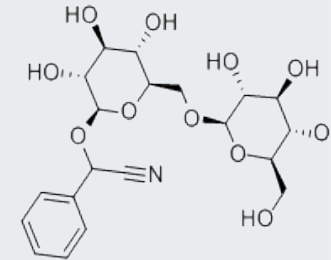


苦杏仁中的指標成分的分析

			
類型 薔薇科植物的杏仁的乾燥成熟種子	功效 <ul style="list-style-type: none">降氣止咳平喘	性狀 <ul style="list-style-type: none">呈扁心形表面黃棕色至深棕色	指標成分 <ul style="list-style-type: none">苦杏仁苷

指標成分類型 (Chemical markers classification)

糖苷類 (Glycosides)



苦杏仁苷
Amygdalin





分析糖苷類 (Glycosides)



第二階段工作



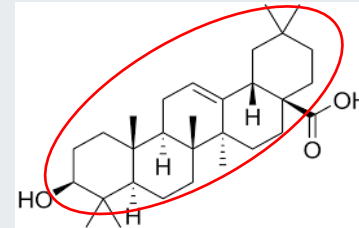
枇杷葉中的指標成分的分析

			
<p>類型</p> <p>為薔薇科植物 枇杷的干燥葉</p>	<p>功效</p> <ul style="list-style-type: none">• 清肺止咳• 降逆止嘔	<p>性狀</p> <ul style="list-style-type: none">• 呈長圓形或倒卵形• 先端尖，基部楔形	<p>指標成分</p> <ul style="list-style-type: none">• 齊墩果酸• 熊果酸

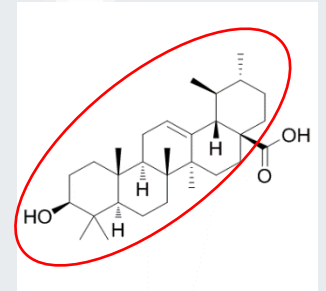
分析三萜類化合物 (Triterpenoid)

- 溶解度(Solubility)
- 易溶於石油醚(petroleum ether) 乙醚 (diethyl ether) 甲醇(methanol) 乙醇 (ethanol)
- 極少溶於水

指標成分類型 (Chemical markers classification) 三萜類化合物 (Triterpenoid)

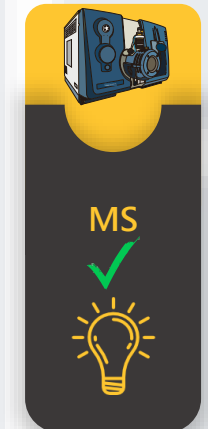
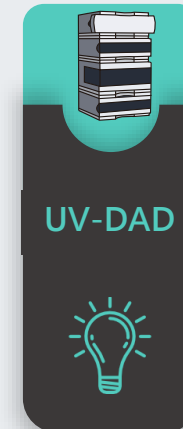
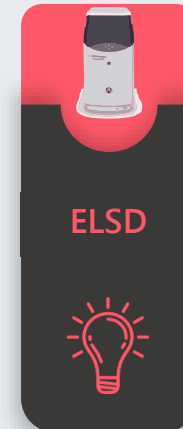


齊墩果酸
Oleanolic acid



熊果酸
Ursolic acid

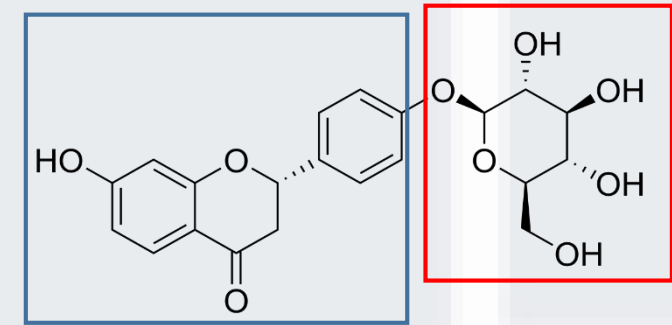
分析三萜類化合物 (Triterpenoid)



甘草中的指標成分的分析

			
<p>類型</p> <p>豆科植物甘草的乾燥的根和根莖</p>	<p>功效</p> <ul style="list-style-type: none"> • 補脾益氣 • 清熱解毒 • 祛痰止咳 • 緩急止痛 	<p>性狀</p> <ul style="list-style-type: none"> • 根呈圓柱形 • 質堅實 • 斷面略顯纖維性 	<p>指標成分</p> <ul style="list-style-type: none"> • 甘草苷 • 甘草酸

指標成分類型 (Chemical markers classification)
 黃酮甙類 (flavanone glycoside)



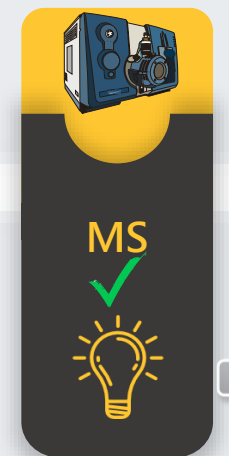
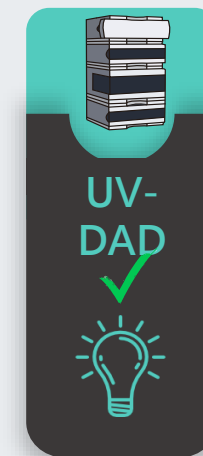
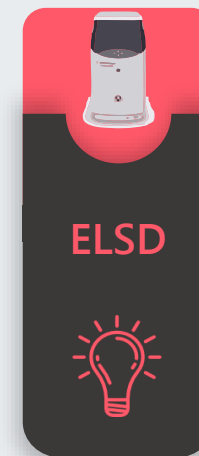
甘草苷
liquiritin

分析黃酮類皂苷 (flavanone saponin)





指標成分類型 (Chemical markers classification)

溶解度(Solubility)

易溶於水、甲醇 (methanol)、乙醇 (ethanol)

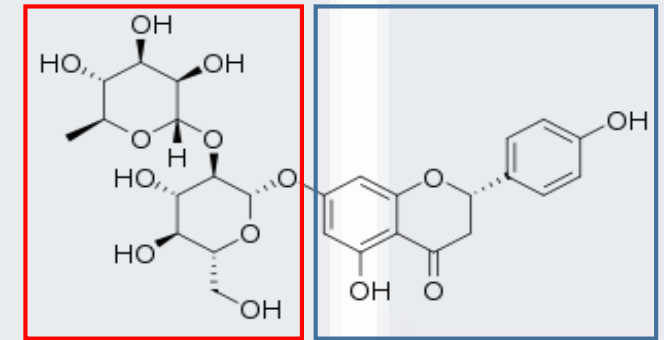


化橘紅中的指標成分的分析

			
<p>類型</p> <p>芸香科植物化州柚或柚的未成熟或近成熟的干燥外層果皮</p>	<p>功效</p> <ul style="list-style-type: none"> 理氣寬中 燥濕化痰 用於咳嗽痰多，食積傷酒嘔惡痞悶 	<p>性狀</p> <ul style="list-style-type: none"> 呈對折的七角或展平的五角星狀，單片呈柳葉形 	<p>指標成分</p> <ul style="list-style-type: none"> 柚皮苷

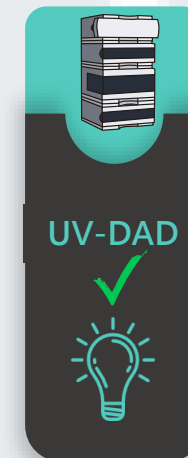
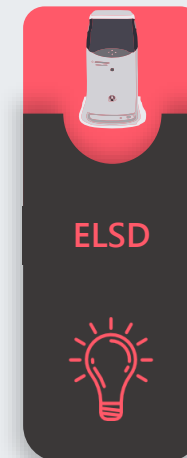
指標成分類型 (Chemical markers classification)

黃酮甙類 (flavanone glycoside)



柚皮苷
Naringin

分析黃酮甙類 (flavanone glycoside)







指標成分類型 (Chemical markers classification)

溶解度 (Solubility)

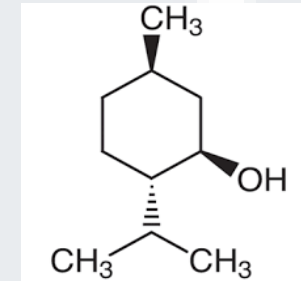
易溶於水、甲醇 (methanol)、乙醇 (ethanol)

薄荷中的指標成分的分析

			
<p>類型</p> <p>唇形科植物薄荷的鮮莖和葉的提取物</p>	<p>功效</p> <ul style="list-style-type: none"> • 疏散風熱 • 清利頭目 • 利咽，透疹 • 疏肝行氣 	<p>性狀</p> <ul style="list-style-type: none"> • 無色針狀或棱柱狀結晶或白色結晶性粉末 	<p>指標成分</p> <ul style="list-style-type: none"> • 薄荷

指標成分類型 (Chemical markers classification)

單萜類 (monoterpenoids)

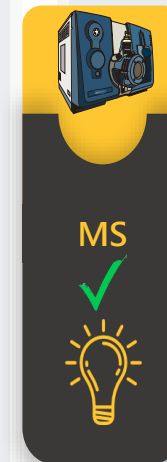
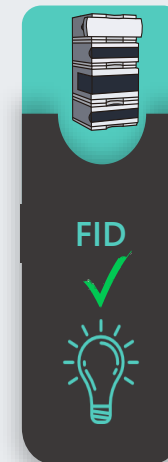


薄荷
Menthol

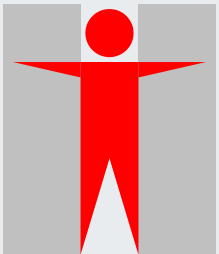
分析單萜類 (monoterpenoids)

指標成分類型 (Chemical markers classification)

- 溶解度(Solubility)
- 易溶於甲醇(methanol)、乙醇(ethanol)
- 少溶於水



枇杷膏的分析過程


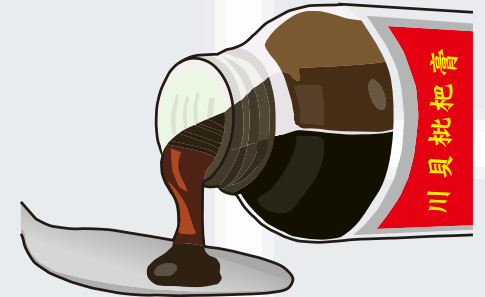
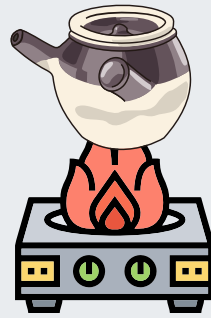


自製枇杷膏樣本

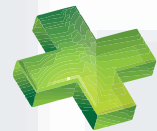
枇杷膏處方箋

北沙參	茯苓	苦杏仁油	法半夏	甘草	苦杏仁	枇杷葉	川貝母
0.25克	0.25克	0.25克	0.25克	5克	0.15克	2.5克	5克
遠志	五味子	款冬花	瓜蒌子	生薑	薄荷腦	化橘紅	桔梗
0.75克	0.05克	0.75克	0.25克	0.25克	0.25克	1克	0.5克

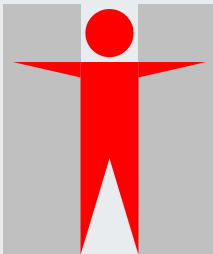
中醫師
GCMTI

實驗樣本



陰性對照樣本



化學指標成分分析技術

中藥材	化學指標成分	檢測方法
川貝母	貝母辛	高效液相色譜串聯質譜法
桔梗	桔梗皂苷 ^D	
苦杏仁	苦杏仁苷	
枇杷葉	熊果酸	
化橘紅	柚皮苷	
甘草	甘草苷	
薄荷	薄荷	氣相色譜火焰電離測定法及 氣相色譜質譜法



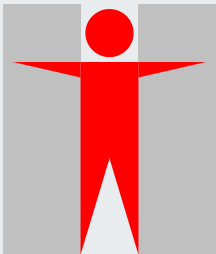
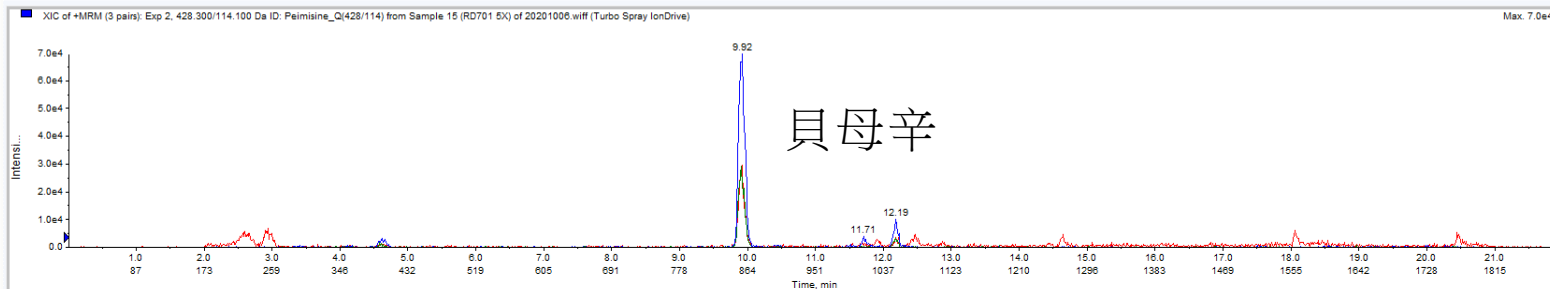
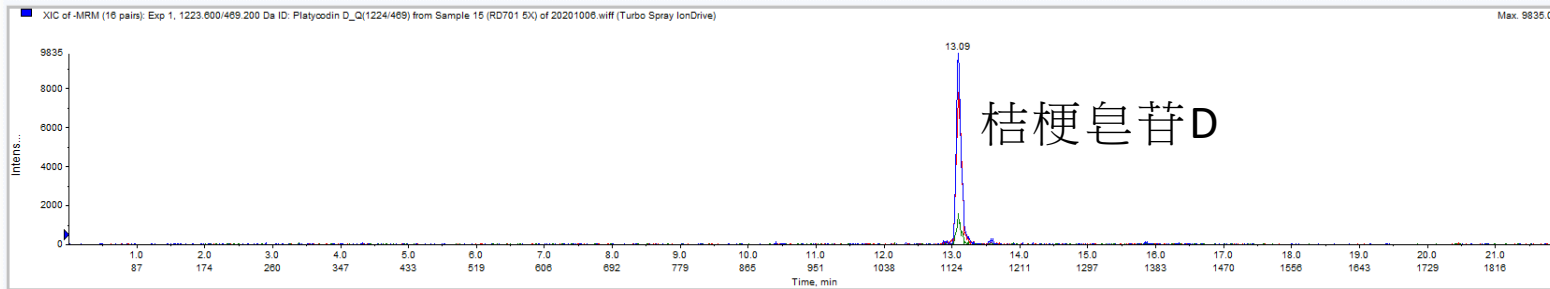
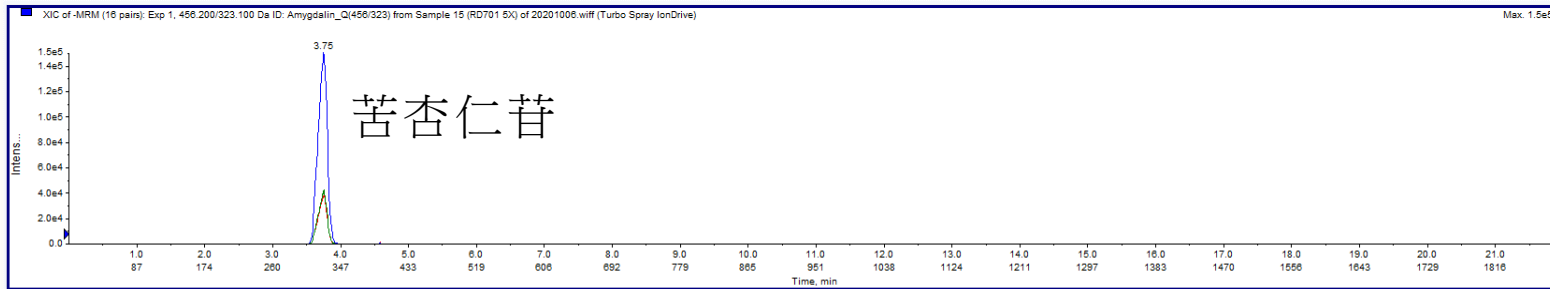
過程中遇見的問題

- 樣本溶解性(Sample solubility)
 - 有機溶劑及水的合適比例(有機溶劑: 水)
- 清理步驟(clean-up procedures)
 - 液-液提取法 (Liquid-liquid extraction)
 - 固相萃取柱 (SPE column)
 - Quenchers
- 儀器設置條件(Instrument settings)
 - 流動相溶劑 (Mobile phase solvent)
 - 液相緩沖劑 (LC buffer)
 - 質譜儀溫度 (MS temperature)
 - 電離溫度 (Ionization temperature)
- 不同市場上的樣本(market samples)
 - 搜集市場上的樣本測試方法的適用性及用以作方法學考察



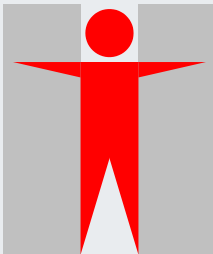
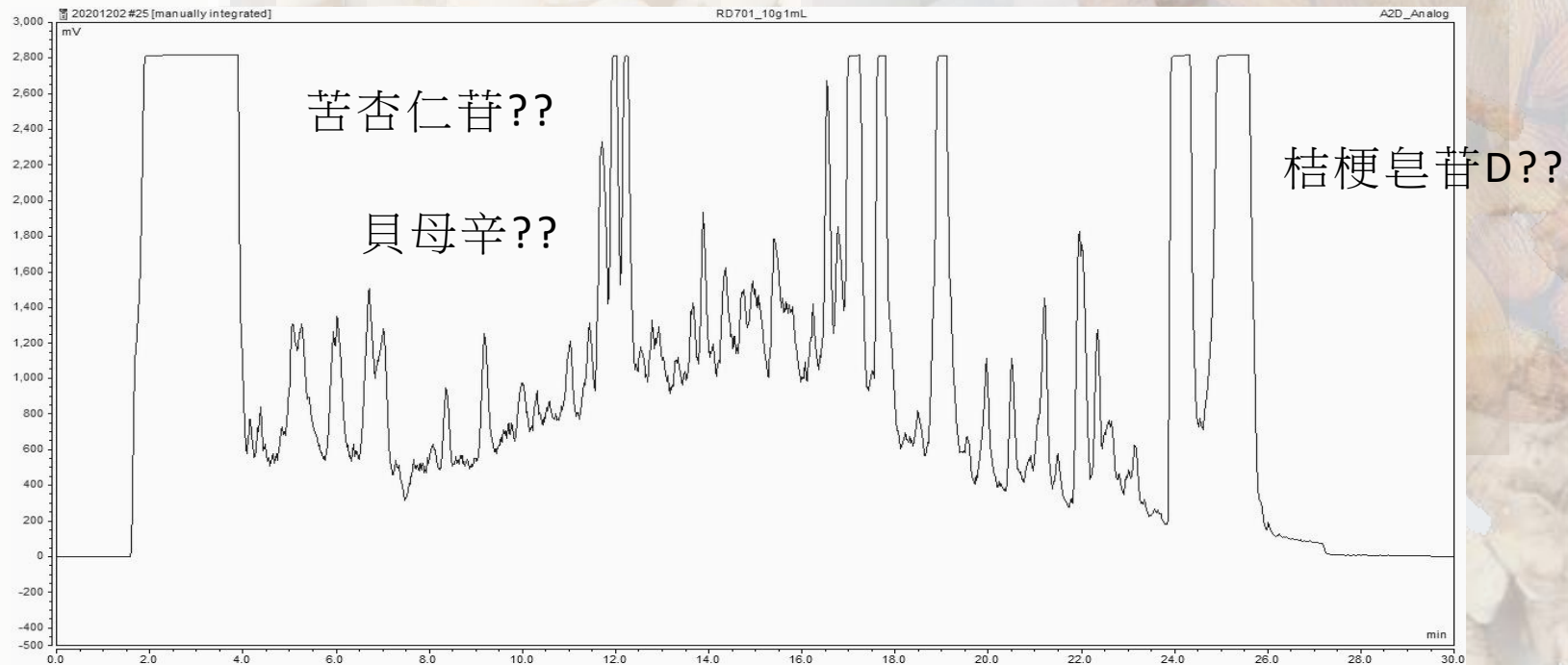
液相色譜串聯質譜儀分析(HPLC-MS/MS)

- 樣本色譜圖：



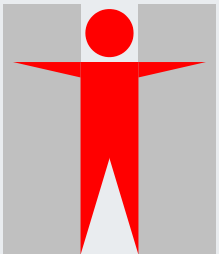
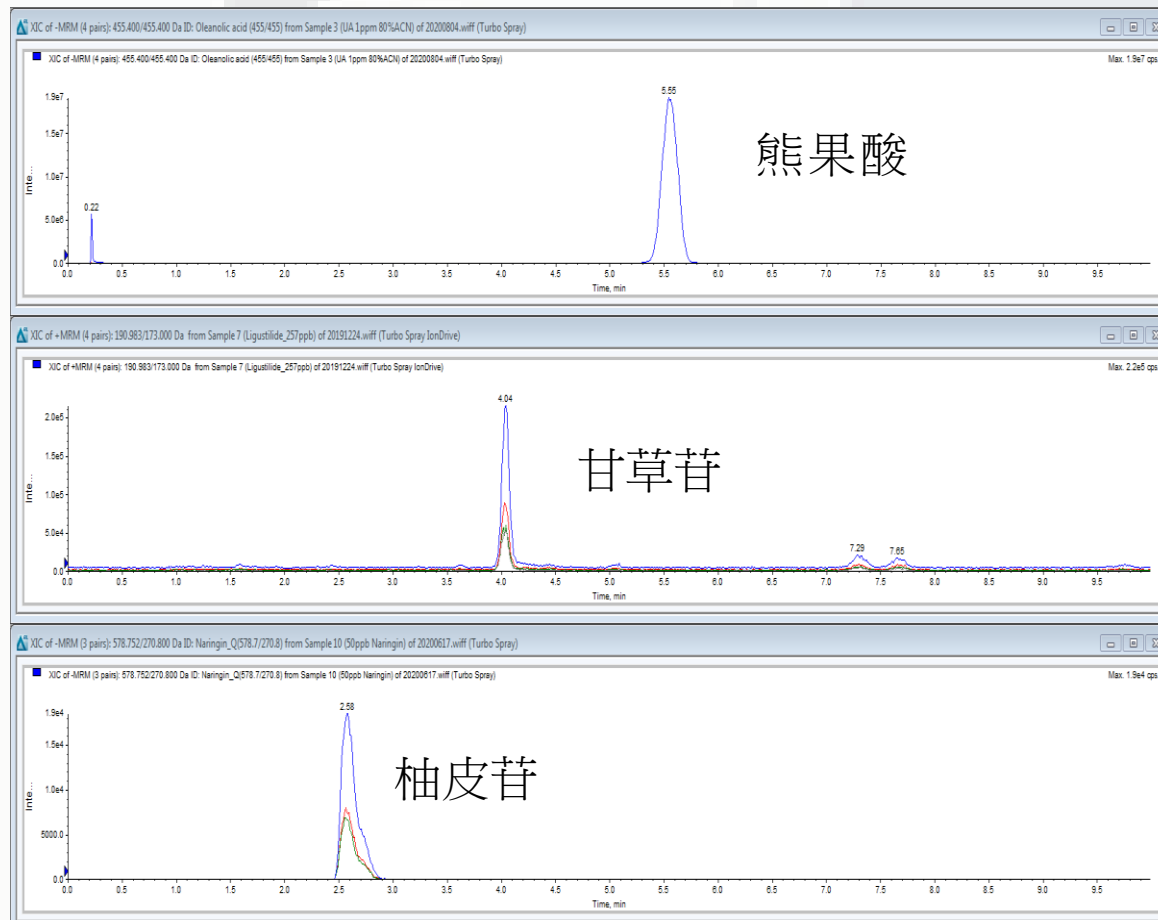
液相色譜配備二極管陣列檢測器分析 (LC-DAD)

- 樣本色譜圖：



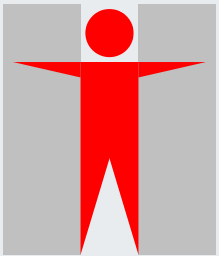
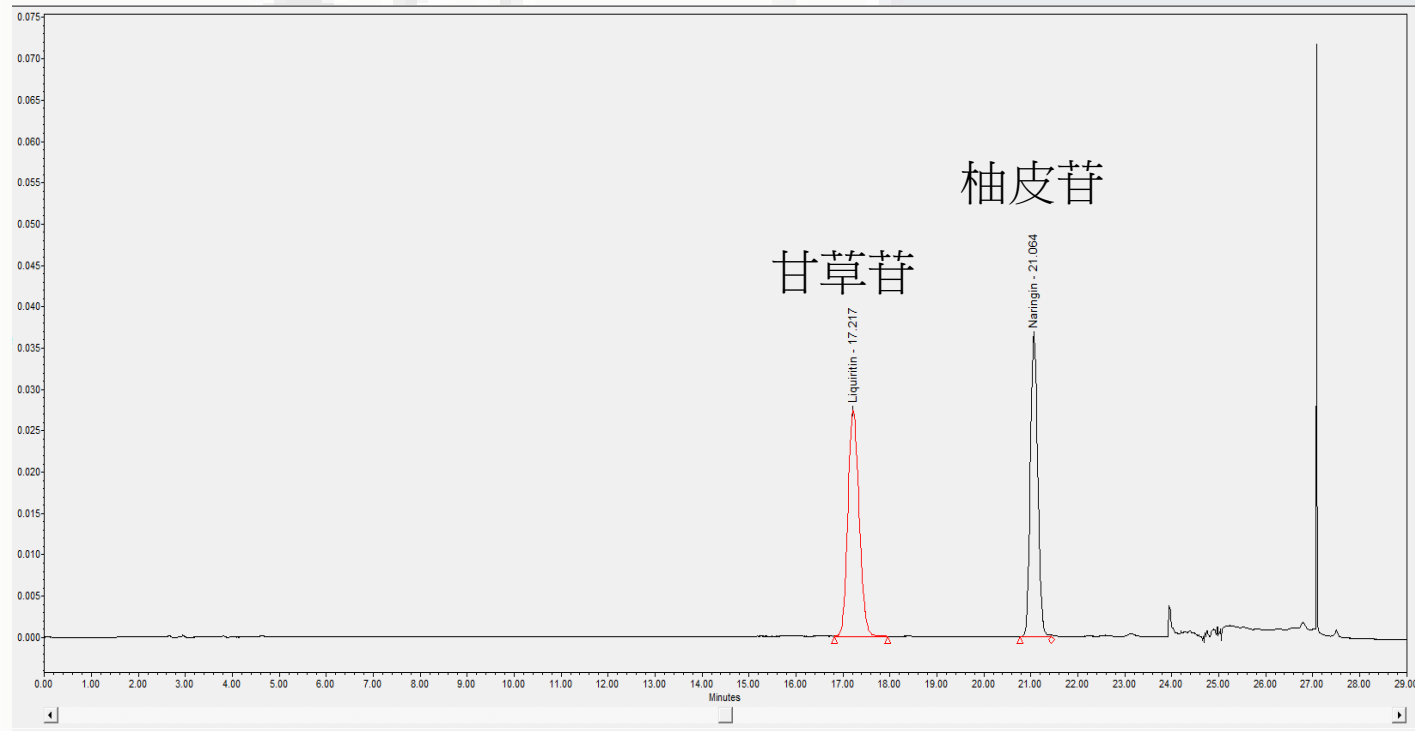
液相色譜串聯質譜儀分析(HPLC-MS/MS)

- 樣本色譜圖：



液相色譜配備二極管陣列檢測器分析 (LC-DAD)

- 樣本色譜圖：

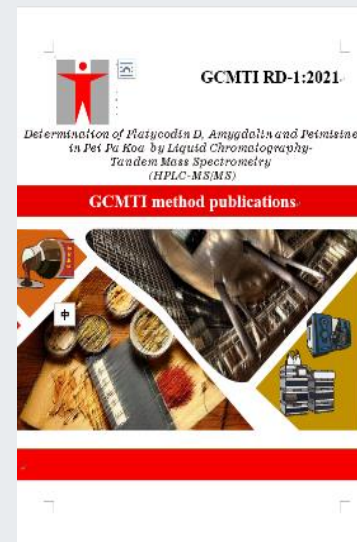


研究成果

https://www.cmro.gov.hk/html/b5/useful_information/gcmti/research/index.html



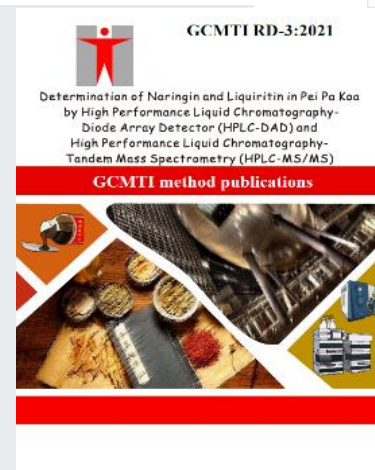
The screenshot shows the homepage of the Chinese Medicine Regulatory Office (CMRO). At the top, there is a header with the CMRO logo and name in Chinese and English, along with navigation links for '我的自訂色彩', 'A A A 搜尋', and '網頁指南'. Below the header is a banner with the text '給市民的資訊', '給中醫藥界的資訊', and '給中藥業界的資訊'. The main content area is divided into several sections: '政府中藥檢測中心', '研究成果', '性狀及顯微鑒別' (with a sub-section for '香港容易混淆中藥的性狀及顯微鑒別研究'), '生物科技及化學' (with sub-sections for '外用藥油中中藥材指標成分的分析', '以DNA技術作為鑒別鹿茸的互補檢測方法', and '中藥材參考DNA序列庫'), and '測試方法'. On the left side, there is a vertical navigation menu with links to '主頁', '重要資訊', '關於我們', '政府中藥檢測中心', '世衛傳統醫藥合作中心', '中成藥生產質量管理規範', '網上資源', '健康資訊及活動', '相關網頁', and '聯給我們'. At the bottom, there are logos for the '香港特別行政區政府 衛生署', '香港中醫藥管理委員會', '衛生防護中心', and '支持器官捐贈'.



GCMTI RD-1:2021
Determination of Platycodin D, Amygdalin and Peimisine in Pei Pa Koa by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (HPLC-MS/MS)
GCMTI method publications



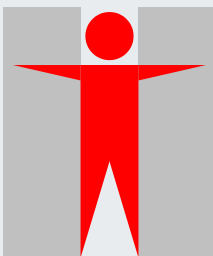
GCMTI RD-2:2021
Determination of Menthol in Pei Pa Koa by Gas Chromatography-Flame Ionization Detector (GC-FID) and Gas Chromatography- Mass Spectrometry (GC-MS)
GCMTI method publications



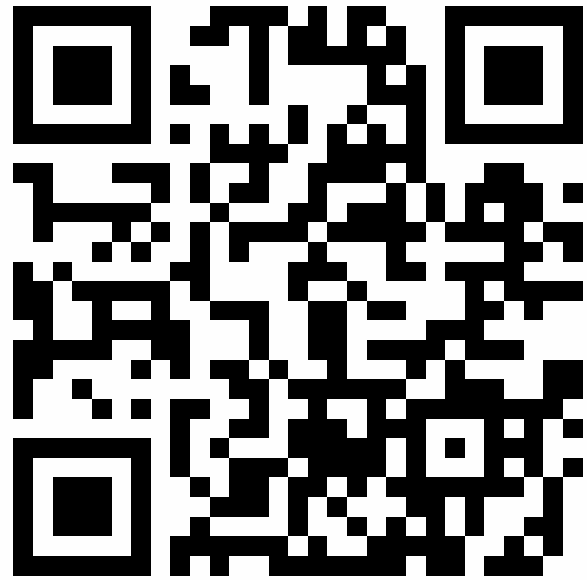
GCMTI RD-3:2021
Determination of Naringin and Liquiritin in Pei Pa Koa by High Performance Liquid Chromatography-Diode Array Detector (HPLC-DAD) and High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (HPLC-MS/MS)
GCMTI method publications



GCMTI RD-4:2021
Identification of Ursolic acid in Pei Pa Koa by High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (HPLC-MS/MS)
GCMTI method publications



問卷調查



謝謝

