

中藥摻加Sulfamethoxazole之定量探討

顧祐瑞 蔡明哲 溫國慶

行政院衛生署藥物食品檢驗局

摘 要

本研究探討某中醫診所調劑作為治療性病疱疹之早、中及晚三餐餐後服用之三種藥粉中所摻加之西藥及其含量。該三種檢體數量分別為11、11及12包，其各包間之重量差異頗大，其最小包至最大包之重量及相對標準偏差依序為，2.844-4.420g、13.2%；2.808-3.782g、9.2%及2.654-3.723g、9.2%。經確認試驗結果，早及中餐後服用之檢體檢出含sulfamethoxazole西藥成分，繼以高效液相層析儀分析sulfamethoxazole之含量，採用C18逆相層析管柱，以乙腈：水(含1%醋酸)=18:82作沖提液分析。sulfamethoxazole之回歸方程式為 $Y=240.78X-3.50$ ($r=0.9999$)，顯示良好之線性關係；同日間及異日間之相對標準偏差分別為1.2%及0.2% ($n=5$)，顯示再現性佳；添加回收率在93.9-97.0%之間，顯示準確性佳，可用於中藥摻加sulfamethoxazole西藥成分之分析。早及中餐飯後服用之兩種檢體中sulfamethoxazole之平均含量分別為395 mg及345 mg。

前 言

中藥製劑摻加西藥為行政院衛生署所不許，故在配合行政管理需求之例行性檢驗，一般均止於定性之確認試驗，對於含量問題的探討則較少報告，然為進一步探討此等檢出之西藥成分其用量是否超過一般使用之劑量，以及其調製混合均勻與否，故加以定量實有必要。本研究係於地方衛生局送驗之例行性檢體中，來自某中醫診所調劑治療性病疱疹之中藥粉，經篩檢發現含sulfamethoxazole，而進一步探討其含量，參考Roos⁽¹⁾之報告採用之高效液相層析儀分析磺胺藥製劑方法，探討其在中藥檢體中定量sulfamethoxazole成分之可行性，分析同日間及異日間之相對標準偏差及回收率等項目加以探討，以確認其在中藥中定量分析之可行性。

材料與方法

一、檢體來源

高雄市政府衛生局於民國82年4月間，送驗轄內某中醫診所用為治療疱疹之紙包檢體，註明為早、中及晚餐飯後服用之中藥粉三種，以下分別以A、B及C略稱之，A及B各為11包，C為12包。

二、試藥

sulfamethoxazole及methyl paraben購自美國SIGMA公司，sulfadiazine, sulfadimethoxine, sulfamerazine, sulfamethazine, sulfisoxazole, sulfamethoxypyridazine均為製劑原料，乙腈、氯仿(均LC級)購自愛爾蘭LAB-SCAN公司，醋酸、乙酸乙酯購自皓峰公司，乙醚購自英國BDH公司，乙醇購自公賣局。

三、儀器

使用WATERS高效液相層析儀(WATERS 600E HPLC Pump and WATERS 486 UV Detector)，連接自動注射器(Shimadzu SIL-9A auto injector)所用條件如下：層析管為Cosmosil 5C18

AR 150×4.6 mm I.D.;移動相為乙腈:水(含1%醋酸)=18:82,流速為1.5 ml/min,波長為254 nm。

四、實驗方法

(一)西藥成分之篩檢

三種檢體依本局編印之中藥製劑羈加西藥之檢驗⁽²⁾所登載之方法檢驗,分別稱取檢體粉末約3 g,加入乙醇超音波振盪萃取30分後過濾,供作檢液,以薄層層析法展開。薄層層析法之展開液為氯仿:乙酸乙酯(1:1)及乙酸乙酯:乙醚(4:1),以p-dimethylaminocinnamaldehyde試液及p-dimethylaminobenzaldehyde試液為呈色劑。

(二)檢體之重量差異

三種檢體每包分別稱其內容粉末之重量,求取其平均重量,並計算其相對標準偏差。

(三)Sulfamethoxazole之定量分析

1.標準溶液之配製

精確稱取sulfamethoxazole標準品及內部標準品methyl paraben適量,以95%乙醇稀釋調配成一系列濃度依序為sulfamethoxazole 0.1、0.2、0.4及0.8 mg/ml;內部標準品methyl paraben為0.1 mg/ml。

2.檢液之配製

精確稱取檢體粉末約100 mg,加95%乙醇適量,於超音波振盪萃取30分後過濾,並加入內部標準品溶液,使其含methyl paraben 0.1 mg/ml。

3.檢量線之製作

分別取不同濃度之標準品溶液注入高效液相層析儀分析。以各標準品與內部標準品波峰面積比為X軸,標準品之濃度為Y軸,作圖並求出檢量線之線性迴歸方程式及相關係數。

4.添加回收試驗

分別精確稱取A檢體粉末五份,各約100 mg,一份作為對照組,其他四份分別添加sulfamethoxazole標準品5、7.5、10及12.5 mg後,同檢液之配製操作以高效液相層析儀分析,求其添加回收率。

5.同日間及異日間試驗

於對照標準品檢量線之範圍內,選擇sulfamethoxazole 0.4 mg/ml之對照標準溶液,於同一日及不同的五天重覆注入HPLC分析各五次,將所得之數據(peak area ratio)計算相對標準偏差。

(四)七種磺胺藥之定性分析

稱取sulfamethoxazole、sulfadiazine、sulfamerazine、sulfamethazine、sulfathiazole、sulfisoxazole及sulfamethoxypyridazine標準品各約10 mg,加乙醇溶解並稀釋至25 ml,以高效液相層析儀分析。

結果與討論

本研究探討之檢體係高雄市某中醫診所,中醫師調劑給予一25歲男性求診病患作為治療性病疱疹之用,其所交付之藥品計有A、B及C三種,分別為早、中及晚三餐後服用一包,其病歷表記載所使用之中藥粉係加味逍遙散、龍膽瀉肝湯、十味敗毒散三種複方及連翹單方之混合粉末。該三檢體經篩檢其西藥成分並加以定量其結果分述如下:

一、三種檢體其摻加西藥成分之篩檢

A、B及C三種檢體,經薄層層析法分別以氯仿:乙酸乙酯(1:1)及乙酸乙酯:乙醚(4:1)展開,與sulfamethoxazole標準品比對,於紫外光燈254 nm波長下檢視,其R_f值分別為0.44及0.83,再噴以p-dimethylaminocinnamaldehyde試液及p-dimethylaminobenzaldehyde試液呈色劑,分別呈紅色與黃色色點,且刮下薄層層析板分離之成分及同操作之薄層層析板上之sulfamethoxazole對照標準品,溶於乙醇,經紫外光分光光度計檢測,A及B檢體兩者之檢出成分均與sulfamethoxazole對照標準品之UV吸收圖譜一致,其最大吸收為λ(95% ethanol) 268及204 nm,最小吸收為237 nm,晚餐後服用之檢體則未檢出sulfamethoxazole成分。

二、各包檢體之重量差異

A、B及C三種檢體,分別為11、11及12包,其各包稱量之重量差異如表一所示A、B及C三種檢體,

Table 1. The variation of sample weight

Sample	Doses of sample	Net weight (g/dose)		Mean ± S.D.	R.S.D.(%)
		Highest	Lowest		
A	11	4.420	2.844	3.377 ± 0.447	13.2
B	11	3.782	2.808	3.163 ± 0.290	9.2
C	12	3.723	2.654	3.222 ± 0.297	9.2

其最低至最高分別為2.844g~4.420g, 2.808g~3.782g及2.654g~3.723g, 其中A之相對標準偏差高達13.2%, 最大包與最小包相差達1.6倍; B及C之相對標準偏差均為9.2%, 最大包與最小包相差達1.3倍及1.4倍。顯示其調劑之分包其重量管制不佳, 每次所服之劑量相差頗大。

三、A、B兩種檢體中所摻加之sulfamethoxazole西藥成分之定量

本研究所採用Roos⁽¹⁾文獻之HPLC分析方法, 用於中藥摻加西藥之定量分析, 結果如圖一所示, 其檢量線之回歸方程式為 $Y = 240.78X - 3.50$ ($r = 0.9999$), 亦顯示良好之線性關係, 另同日間及異日間之相對標準偏差分別為1.2%及0.2%, 呈良好之再現性, 如表二所示, 其添加回收率之結果如表三所示, 在93.9-97.0%, 顯示此法亦可用於本中藥檢體摻加西藥之定量分析。

A及B兩種檢體, 各取三包, 依上述之定量方法, 測定其所摻加之sulfamethoxazole之含量, 其結果A檢體三包之含量分別為11.5%, 11.7%及11.8%, 平均為11.7%, B檢體三包之含量分別為10.8%, 10.8%及11.0%, 平均為10.9%, 其含量尚屬一致。推測A、B檢體其添加sulfamethoxazole成分, 可能採大量混合後再予以分裝。然由上述定量

之結果就表二所載之最大包及最小包量予以換算, A、B兩種檢體每包所含sulfamethoxazole之量, A檢體由332 mg/包至517 mg/包, 平均含量約為395 mg/包; B檢體由306 mg/包至412 mg/包, 平均含量約為345 mg/包, 其偏差甚大。查sulfamethoxazole^(3,4)屬短、中效性磺胺藥, 臨床上用於治療全身感染, 口服劑量最初給予2g, 然後每12小時給1g, 嚴重感染者, 最初給予2g, 然後每日三次, 每次需1g⁽⁵⁾。然A及B兩種中藥粉中所含sulfamethoxazole合計平均量亦只有740 mg而已, 實不足為化學療法劑之維持劑量, 且本磺胺藥並無抗病毒感染作用, 本檢體用於治療病毒性感染之疱疹, 就藥理學而言實不具意義。

另由該病人之病歷資料顯示其使用三種複方及單方一種, 查其所用之中藥, 十味敗毒散加連翹有強化臟器機能, 解除毒素之效, 各種化膿性疾患及皮膚病皆適用; 龍膽瀉肝湯用於泌尿系炎症, 排尿痛, 殘尿感, 尿濁等屬濕熱俱盛者; 加味逍遙散用治尿道炎, 膀胱炎等作用^(6,7,8), 其多個處方混合致使用之各別複方之用量相對減少, 其療效是否顯現, 尚待探討。

另利用本法分析本局中藥製劑羈加西藥之檢驗⁽²⁾乙書中, 解毒類項目所記載之七種磺胺藥, 其

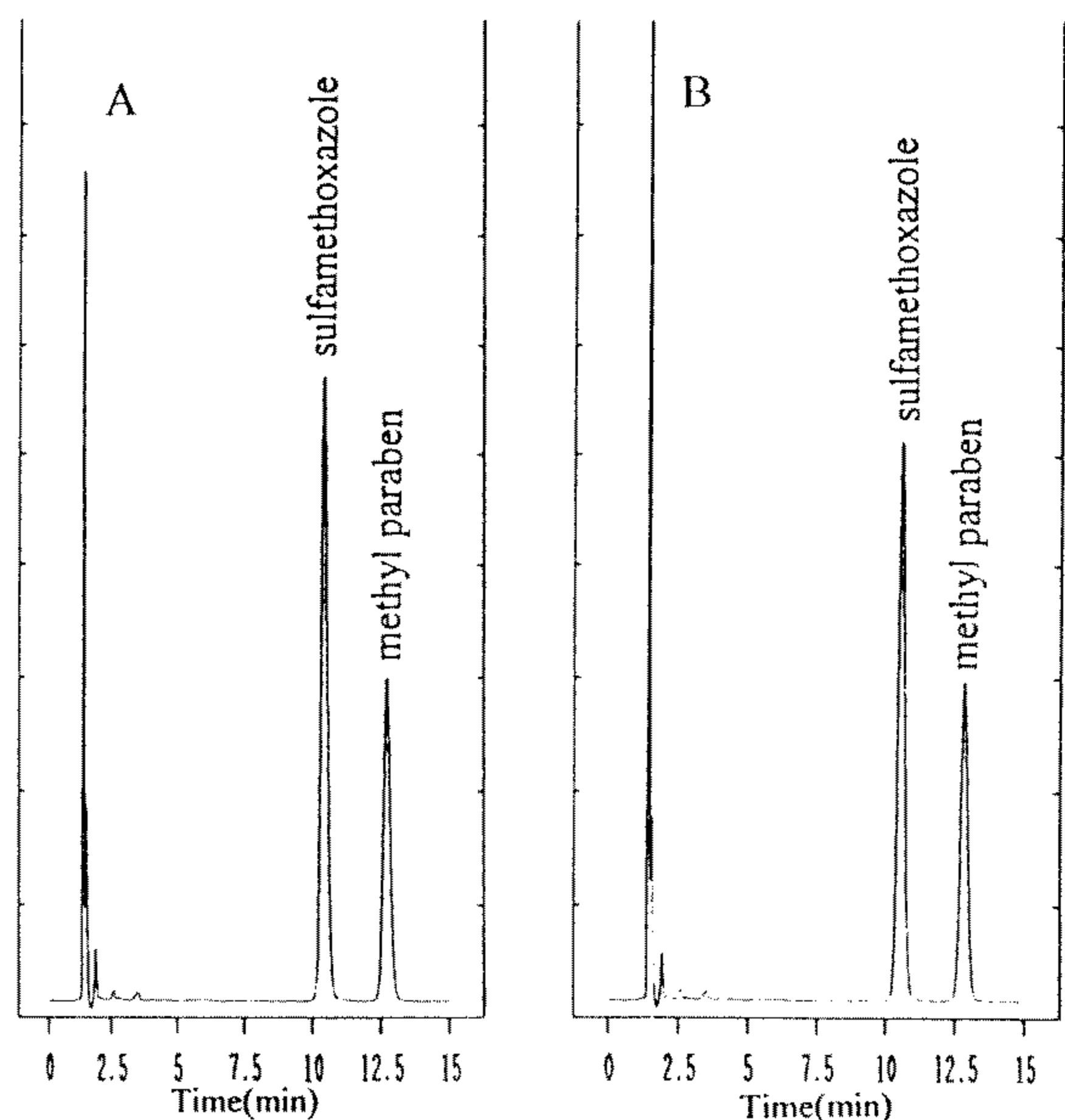


Figure 1. Chromatograms of sulfamethoxazole adulterated in traditional Chinese medicine for herpes use. Methyl paraben used as internal standard. Sample A, administration after breakfast meal. Sample B, administration after lunch meal.

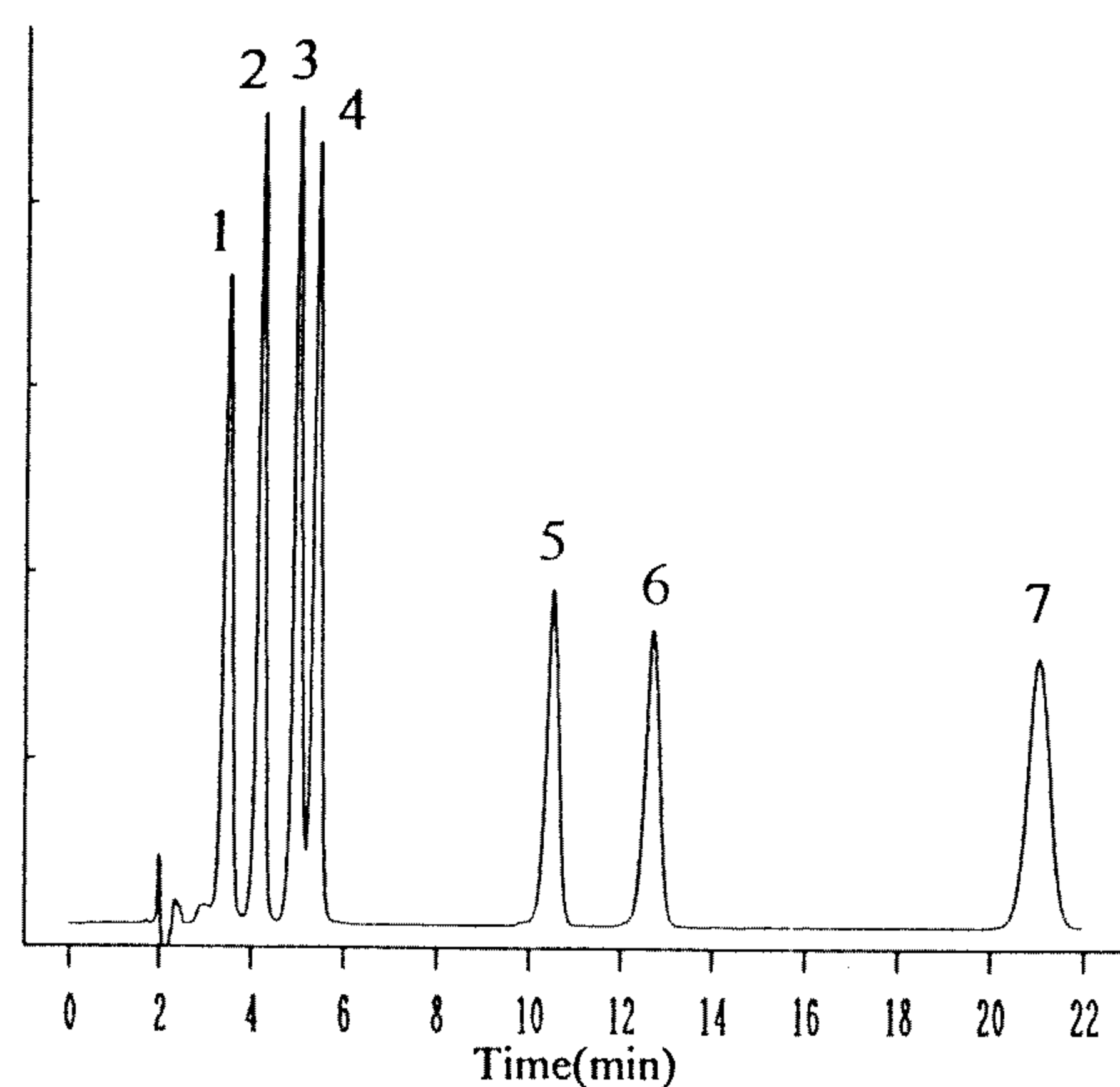


Figure 2. Chromatogram of sulfonamides. 1, sulfadiazine; 2, sulfamerazine; 3, sulfamethazine; 4, sulfamethoxy pyridazine; 5, sulfamethoxazole; 6, sulfisoxazole; 7, sulfadimethoxine.

Journal of Food and Drug Analysis. 1995. 3(2)

Table 2. Interday and intraday variations of sulfamethoxazole (0.4 mg/ml) adulterated in traditional Chinese medicine for herpes use

Adulterated chemical	Peak area of sulfamethoxazole /Peak area of methyl paraben		Mean±S.D. R.S.D.(%)	
	Interday	Intraday	Interday	Intraday
Sulfamethoxazole	1.6488	1.6562	1.6522±0.0025 (0.2)	1.6175±0.0194 (1.2)
	1.6527	1.6056		
	1.6558	1.6093		
	1.6535	1.6084		
	1.6503	1.6082		

Table 3. Recovery of sulfamethoxazole adulterated in traditional Chinese medicine for herpes use

Added(mg)	Found(mg)	Relative recovery(%)	Mean±S.D. (%)	R.S.D(%)
5.1	4.9	96.4	95.8±1.2	1.3
7.4	6.9	93.9		
10.2	9.9	97.0		
12.6	12.1	96.0		

中 sulfamethoxazole 及 sulfamethoxypyridazine 屬長效磺胺藥，其他則屬短及中效磺胺藥，其結果與文獻相似，如圖二所示，各成分之滯留時間依序為，sulfadiazine 3.4 分，sulfamerazine 4.2 分，sulfamethazine 4.9 分，sulfamethoxypyridazine 5.4 分，sulfamethoxazole 10.5 分，sulfisoxazole 12.7 分，sulfadimethoxine 20.6分，顯示七種成分均可達到很好的分離，可作為爾後此類成分之篩檢。

參考文獻

1. Roos, R.W. 1981. High Pressure Liquid Chromatographic Determination of Sulfisoxazole in Pharmaceuticals and Separation Patterns of Other Sulfonamide. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 64(4): 851-854.
2. 劉宜祝, 林哲輝. 1991. 中藥檢驗方法專輯(四中藥製劑羈加西藥之檢驗). p.14. 藥物食品檢驗局. 台北。
3. 日本醫藥情報センター. 1991. 醫療藥日本醫藥品集. pp.534-535, 藥業時報社. 東京. 日本。
4. 陳逸光. 1982. 臨床藥理學. p.849. 嘉洲出版社. 台北。
5. Covington, T.R., Dipalma, J.R., Hussar, D. A., Kunkel, F.E., Lasagna, L., Tatro, D.S. and Whitsett, T.L. 1982. Drug Facts and Comparisons. p. 1331. J. B. Lippincott Co. St. Louis. U.S.A.
6. 許鴻源. 許照信. 1984. 常用漢方方劑圖解. pp. 61-62, 152-154, 495-496. 新醫藥出版社. 台北。
7. 原田正敏. 1992. 尿路疾患用藥—漢方處方における藥效群. 現代東洋醫學. 13(2): 119-122。
8. 戴新民. 1985. 中國方藥學. p. 246. 啓業書局. 台北。

Determination of Sulfamethoxazole Adulterated in Traditional Chinese Medicine

YOE-RAY KU, MING-JER TSAI AND KUO-CHING WEN

National Laboratories of Foods and Drugs, Department of Health, Executive Yuan

ABSTRACT

In this study, three kinds of traditional Chinese medicine obtained from a traditional Chinese physician's clinic for curing herpes were analyzed. Each kind of medicine was dispensed for use after breakfast, lunch and dinner. For each meal, 11, 11 and 12 doses were collected, respectively. The weight distribution ranges and their coefficient of variation among doses of each kind medicine were 2.822-4.420g, 13.2%, 2.808-3.782g, 9.2% and 2.654-3.723g, 9.2%, respectively. Sulfamethoxazole was detected in

the doses dispensed for breakfast and lunch but not found in the dose for dinner. Sulfamethoxazole in the samples were assayed by high performance liquid chromatography on C18 column. The linear calibration range was 0.1-0.8 mg/ml ($r=0.9999$) and recovery was 93.9-97.0%. The relative standard deviations for intraday and interday analysis were 1.2% and 0.2% ($n=5$), respectively. The average content of sulfamethoxazole in the dose for breakfast and lunch were 395 mg and 345 mg, respectively.

Key Words : HPLC, traditional Chinese medicine, sulfamethoxazole, adulterant