

決明子

(CASSIAE SEMEN)

決明子 MI

一、藥材採購及鑑定.....	2
二、藥材性狀描述 (圖 1).....	2
三、藥材組織顯微鑑別〔圖 2(i)和(ii)〕	2
四、藥材粉末顯微鑑別〔圖 3(i)和(ii)〕	3

決明子 藥材 HPLC

一、材料.....	10
二、儀器及層析管柱.....	10
三、實驗藥品及試劑來源.....	10
四、方法.....	10
五、結果.....	14

決明子 飲片 HPLC

一、材料.....	23
二、儀器及層析管柱.....	23
三、實驗藥品及試劑來源.....	23
四、方法.....	23
五、結果.....	26

決明子 TLC

一、方法.....	31
二、萃法選擇及濃度測試.....	32
三、溶媒系統選擇.....	33
四、觀察方式選擇.....	34
五、十批決明子藥材樣品檢測.....	35
六、十批決明子飲片檢測.....	37

決明子

(CASSIAE SEMEN)

一、藥材採購及鑑定

收集 10 批來自全臺北、中、南、東各地不同通路之中藥販賣業或中藥製造業的藥材樣品，確認所收集之藥材為決明子的乾燥成熟種子。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：決明子

生藥名：CASSIAE SEMEN

英文名：Cassia Seed

基原：豆科 Fabaceae (Leguminosae) 植物決明 *Cassia obtusifolia* L. 或小決明 *Cassia tora* L. 的乾燥成熟種子。

採收加工：秋季果實成熟時採收，曬乾，打下種子，除去果等英雜質，再曬乾。

藥材性狀：本藥材為決明或小決明的乾燥成熟種子。決明：種子略呈菱方形、短圓柱形或斜方錐形，兩端平行傾斜，一端較平坦，另端斜尖。表面暗棕色，平滑有光澤，兩側各有 1 條淺黃棕色的縱向稜線或寬帶。質堅硬，不易破碎。種皮薄。氣微，味微苦〔圖 1(i)〕。小決明：種子呈短圓柱形至斜方錐形，表面多為棕色或淺棕色，通常較決明小〔圖 1(ii)〕。

生長分佈：一年生亞灌木狀草本，決明：花期 6~8 月，果期 8~10 月。小決明：植株較小，花期 8~10 月，果期 9~10 月。喜高溫濕潤氣候，需陽光充足以盛夏高溫多雨季節生長最快。適宜的土壤為疏鬆肥沃的砂壤土，低窪地不宜栽種；忌連作，野生於山坡、河邊或栽培。中國大部分地區有分佈，主產於安徽、廣西、四川、浙江、廣東等地。

三、藥材組織顯微鑑別〔圖 2(i)和(ii)〕

1. 種皮薄。角質層平滑，透明，較厚。
2. 柵狀細胞 1 列，具 2 條明顯光輝帶。
3. 支柱細胞 1 列，略呈啞鈴狀，壁厚，細胞間隙大。
4. 營養層由 6~8 列薄壁細胞組成。
5. 胚乳灰白色，半透明，富含糊粉粒。。
6. 子葉二枚，呈 S 狀。
7. 薄壁細胞內含草酸鈣簇晶。

四、藥材粉末顯微鑑別〔圖 3(i)和(ii)〕

1. 本品粉末黃棕色。
2. 草酸鈣簇晶眾多，散佈於薄壁細胞中，偏光顯微鏡下呈多彩狀。
3. 柵狀細胞成群，無色或淡黃色，側面觀細胞 1 列，呈狹長方形、壁厚，胞腔細窄，表面觀呈類多角形。
4. 支柱細胞側面觀呈啞鈴狀，表面觀呈類圓形或多角形。
5. 子葉細胞為薄壁細胞，呈類長方形或類圓形。



圖 1(i) 决明子藥材圖

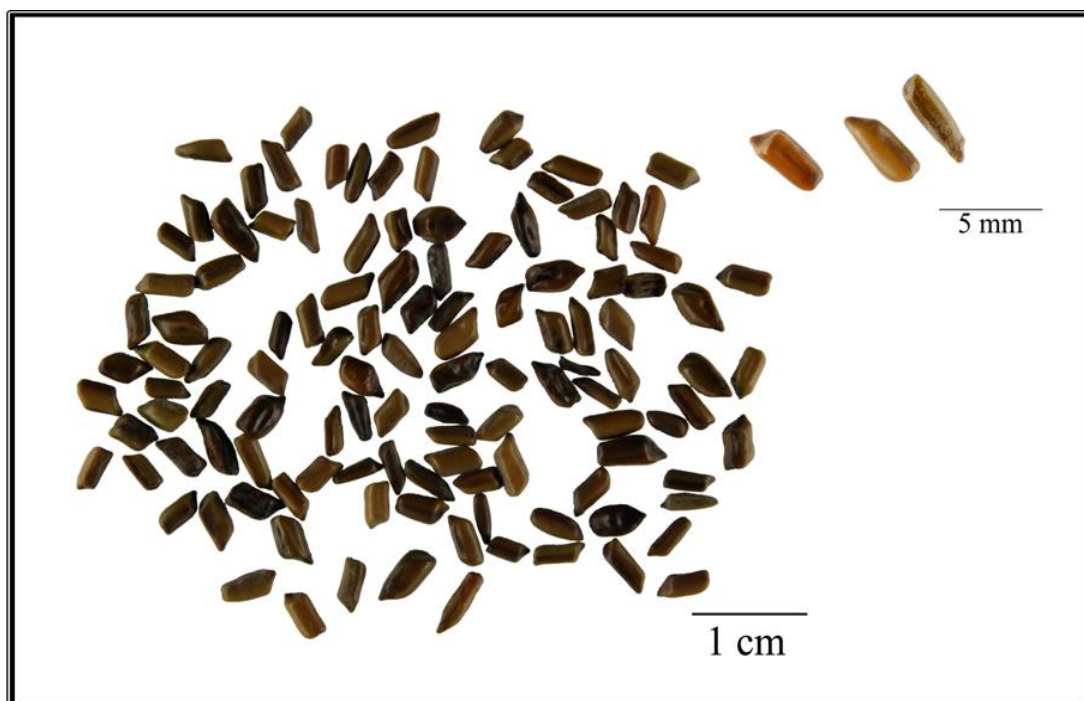


圖 1(ii) 小决明子藥材圖

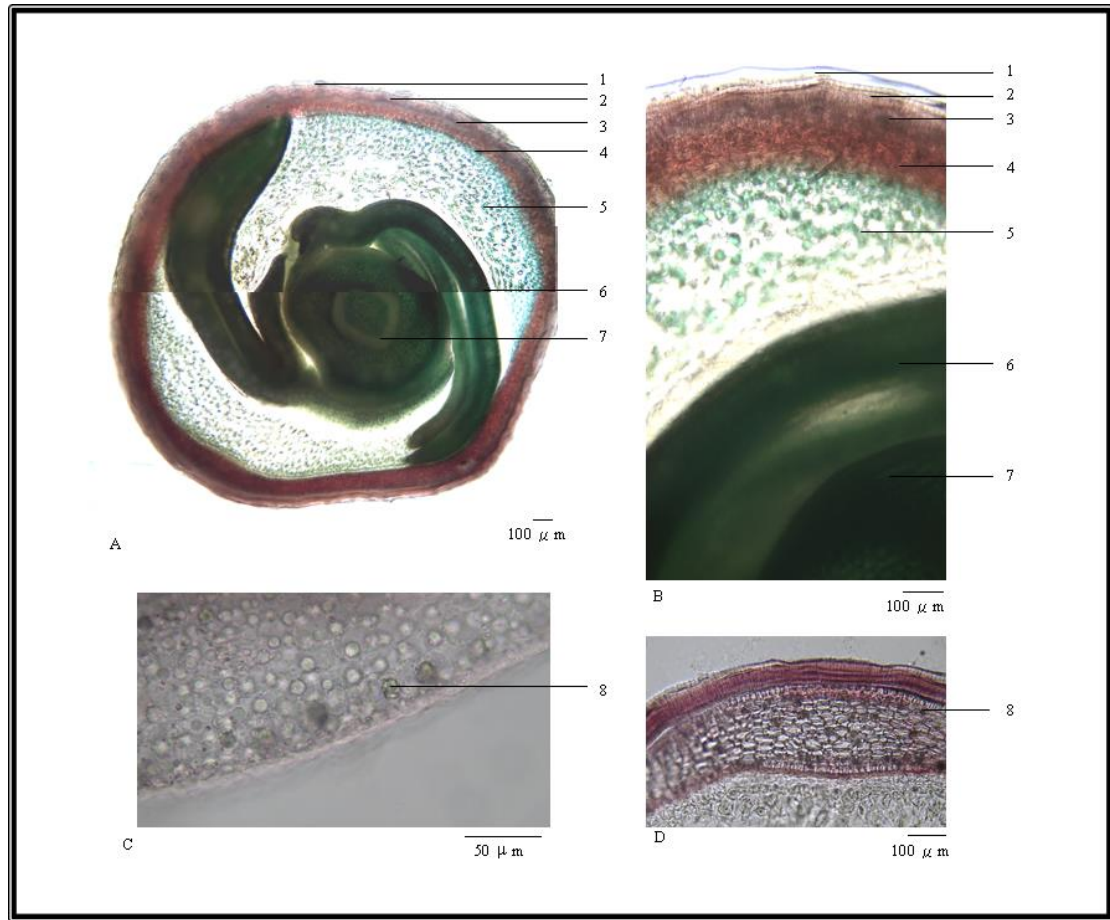


圖 2 (i) 決明子橫切面顯微特徵圖

A.橫切面圖 B.橫切面放大圖 C.子葉含草酸鈣簇晶 D.營養層草酸鈣簇晶散在
 1.角質層 2. 柵狀細胞 3.支柱細胞 4.營養層 5.胚乳 6.子葉 7.胚根 8.草酸鈣簇晶

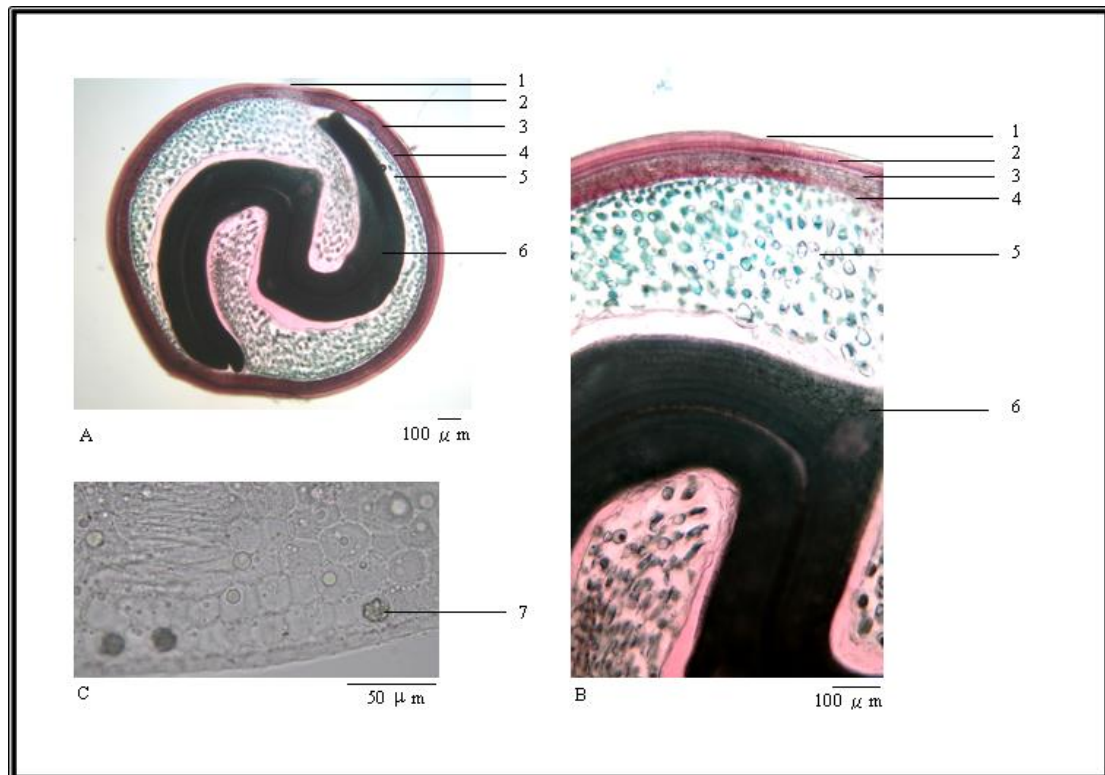


圖 2(ii) 小決明子橫切面顯微特徵圖

A.橫切面圖 B.橫切面放大圖 C.草酸鈣簇晶

1.角質層 2. 柵狀細胞 3.支柱細胞 4.營養層 5.胚乳 6.子葉 7.草酸鈣簇晶

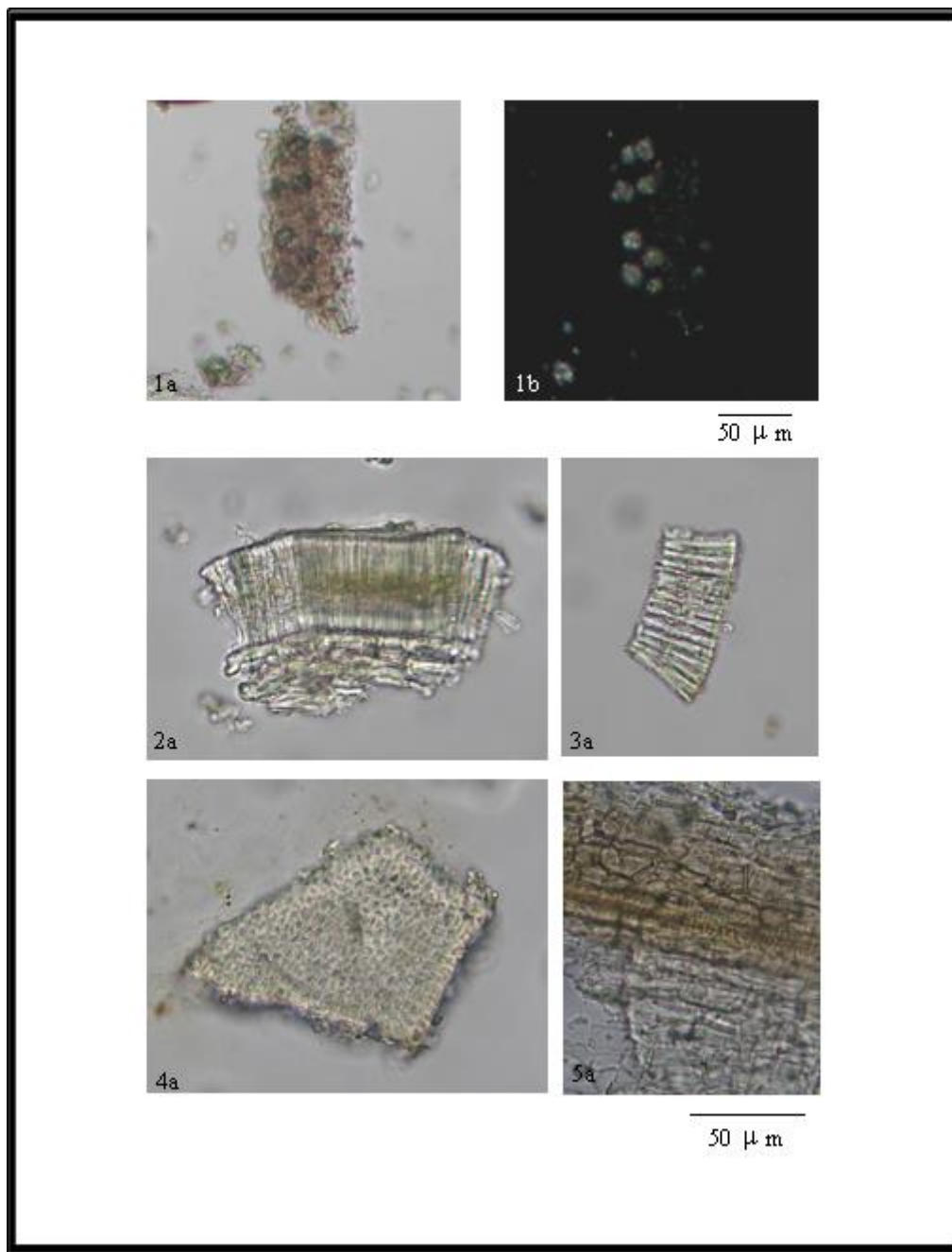


圖 3(i) 決明子粉末顯微特徵圖

a.光學顯微鏡下特徵 b.偏光顯微鏡下特徵

1.草酸鈣簇晶 2.柵狀細胞與支柱細胞 3.柵狀細胞側面觀 4.柵狀細胞表面觀 5.子葉碎片

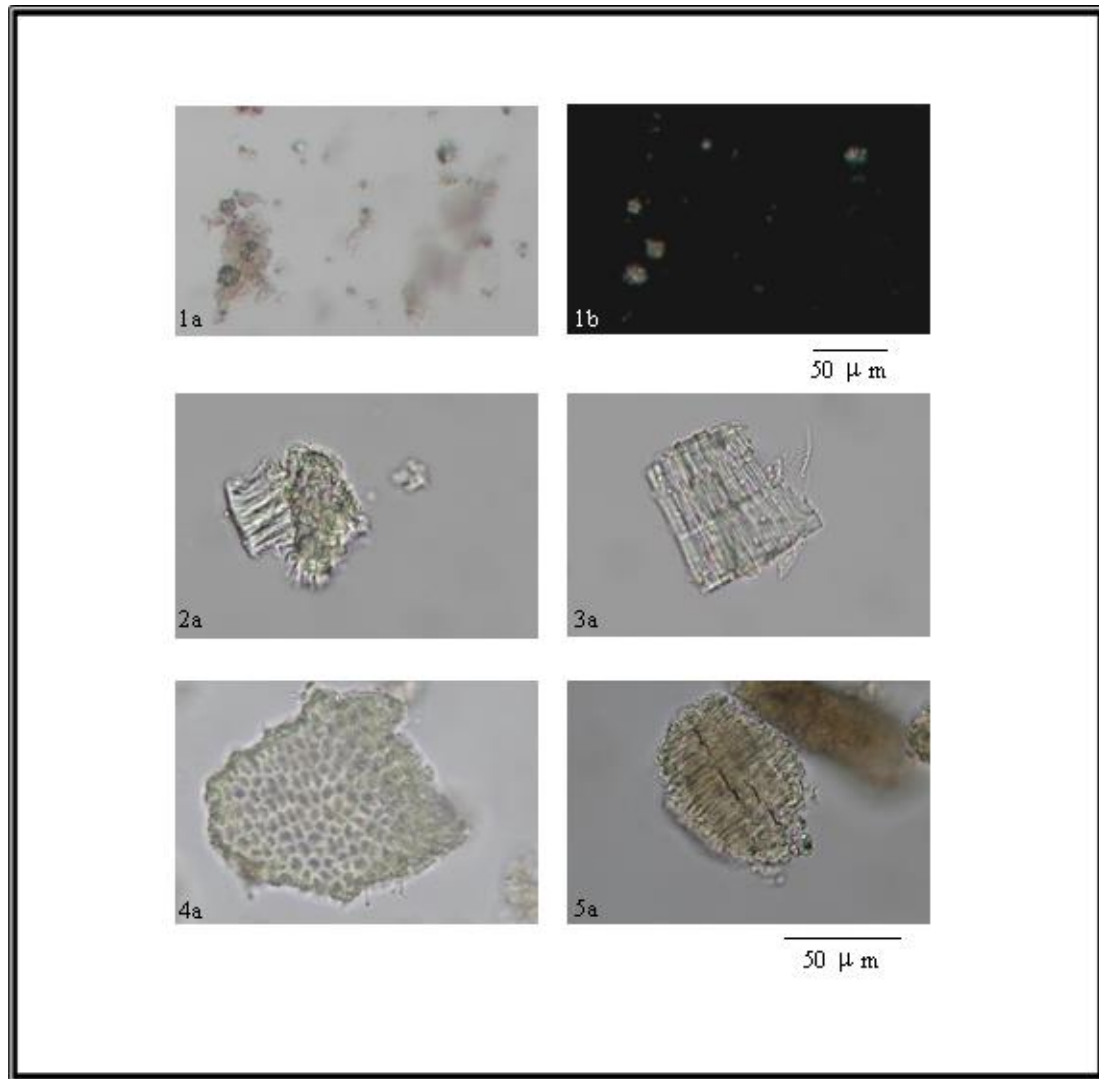


圖 3(ii) 小决明子粉末顯微特徵圖

a.光學顯微鏡下特徵 b.偏光顯微鏡下特徵

1.草酸鈣簇晶 2.柵狀細胞與支柱細胞 3.柵狀細胞側面觀 4.柵狀細胞表面觀 5.子葉碎片

參考文獻

1. 行政院衛生署中華藥典中藥集編修小組編輯 (2013)。中華中藥典第二版。台北市：行政院衛生署。113-114 頁。
2. 張永勳、何玉玲總編輯 (2013)。臺灣中藥典圖鑑。台北：衛生福利部。112-113 頁。
3. 中華人民共和國香港特別行政區政府衛生署中醫藥事務部編製 (2005)。香港中藥材標準第三冊。香港：香港特別行政區政府衛生署中醫藥事務部。296-306 頁。
4. 肖培根等編輯 (2001)。新編中藥志第二卷。北京：化學工業出版社。235-240 頁。
5. 徐國鈞、何宏賢、徐珞珊、金蓉鸞等編輯 (1996)。中國藥材學下冊。北京：中國醫藥科技出版社。1245-1247 頁。
6. 國家中醫藥管理局《中華本草》編委會編輯 (1999)。中華本草第 4 冊。上海：上海科學技術出版社。405-410 頁。
7. 國家藥典委員會編輯 (2009)。中華人民共和國藥典中藥材顯微鑑別彩色圖鑑。北京：人民衛生出版社。202 頁。
8. 國家藥典委員會編輯 (2010)。中華人民共和國藥典 2010 年版一部。北京：中國醫藥科技出版社。135-136 頁。
9. 趙中振、陳虎彪等編著 (2010)。常用中藥材鑑別圖典。香港：萬里機構·萬里書店。328 頁。
10. 趙中振、陳虎彪編著 (2016)。中藥顯微鑑定圖典。福州：海峽出版發行集團·福建科學技術出版社。340-341 頁。

決明子(CASSIAE SEMEN)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店決明子藥材共 10 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Shimadzu LC-2040C 3D, 包含 Quaternary pump、Autosampler、Thermostatted column compartment、Diode-Array Detector; 層析管柱 Phenomenex Luna 5U C₁₈ Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)。

(二) UPLC 儀器及層析管柱

Waters AcQuity Ultra Performance LC, 包含 Binary Solvent Manager、Sampler Manager、PDA Detector; 層析管柱 Waters ACQUITY UPLC® BEH C₁₈ Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)。

三、實驗藥品及試劑來源

(一) 試劑

乙腈(99.9%)購自於 Sigma-Aldrich; 乙醇(95%)購自於國韶實業有限公司; 甲醇(HPLC grade)購自於 Merck; 乙酸乙酯購自於 Merck; 鹽酸(35%)購自於 Sigma-Aldrich; 磷酸(85%)購自於 Sigma-Aldrich。

(二) 標準品

標準品大黃酚(Chrysophanol)購自於友和貿易股份有限公司, 純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳溶解溶媒評估

取本品粉末 2 份, 每份準確稱取 0.5 g, 置 100 mL 圓底瓶中, 準確加入甲醇 50 mL, 加熱迴流處理 1 小時, 冷卻後, 再稱取重量, 用甲醇補足減失的重量, 以 No. 1 濾紙過濾, 取濾液, 濃縮至乾, 加 10%鹽酸 30 mL, 加熱迴流水解 1 小時, 冷卻後, 用乙酸乙酯萃取, 取乙酸乙酯層, 共萃取 4 次, 每次 30 mL, 合併乙酸乙酯層, 溶劑濃縮至乾, 其中 1 份殘渣用無水乙醇: 乙酸乙酯(2: 1)混合溶液使之溶解, 另外 1 份以甲醇使之溶解, 轉移至 25 mL 定量瓶中, 加入溶媒至刻度, 搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 μm), 即得。每針 10 μL 注入高效能液相層析儀(HPLC), 以所測得每克重量之標準品大黃酚最大波峰面積為最佳決明子溶解溶媒。

(二) 最佳萃取條件評估

取本品粉末 4 份, 每份準確稱取 0.5 g, 置 100 mL 圓底瓶中, 準確加入甲醇 50 mL, 分別加熱迴流處理 1 小時、2 小時、3 小時及 4 小時, 冷卻後, 再稱取重量, 用甲醇補足減失的重量, 以 No. 1 濾紙過濾, 取濾液,

濃縮至乾，加 10%鹽酸 30 mL，加熱迴流水解 1 小時，冷卻後，用乙酸乙酯萃取，取乙酸乙酯層，共萃取 4 次，每次 30 mL，合併乙酸乙酯層，溶劑濃縮至乾，殘渣用甲醇使之溶解，轉移至 25 mL 定量瓶中，加入甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 μ m)，即得。每針 10 μ L 注入高效能液相層析儀(HPLC)，以所測得每克重量之標準品大黃酚最大波峰面積為最佳決明子最佳萃取條件。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取標準品大黃酚 0.5 mg，加 1 mL 的甲醇使之溶解製成每 1 mL 含大黃酚 500 μ g 的標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至 40 μ g/mL 製成對照標準品溶液。

(四) 檢品溶液

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 0.50 g，置 100 mL 圓底瓶中，準確加入甲醇 50 mL，加熱迴流處理 3 小時，冷卻後，再稱取重量，用甲醇補足減失的重量，以 No. 1 濾紙過濾，取濾液，濃縮至乾，加 10%鹽酸 30 mL，加熱迴流水解 1 小時，冷卻後，用乙酸乙酯萃取，取乙酸乙酯層，共萃取 4 次，每次 30 mL，合併乙酸乙酯層，溶劑濃縮至乾，殘渣用甲醇使之溶解，轉移至 25 mL 定量瓶中，加甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 μ m)，即得。

(五) 測定法

分別準確吸取對照標準品溶液、檢品溶液 10 μ L，注入 HPLC，測定，用標準曲線分別計算溶液中大黃酚的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取大黃酚標準品儲備溶液適量(500 μ g/mL)，以甲醇稀釋成含大黃酚分別為 250、100、40、25、10、5.0、1.0 μ g/mL 的標準品溶液。以上溶液各取 10 μ L 分別注入 HPLC 進行定量分析，利用標準品之波峰面積(y 軸)和標準品之濃度(x 軸)進行線性回歸，並求得檢量線之方程式 $y = ax + b$ 與相關係數 R^2 。

(七) 精密度試驗

以大黃酚濃度為 40 μ g/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以大黃酚的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性:取同一批市售決明子粉末,依決明子檢品溶液製備方法平行製備 5 份決明子檢品溶液,進樣測定,以大黃酚的含量(%)為指標,求出相對標準差。
2. 穩定性:取同一批市售決明子粉末,依決明子檢品溶液製備方法製備決明子檢品溶液,分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定,以大黃酚的波峰面積為指標,求出相對標準差。

(九) 偵測極限與定量極限試驗

1. 偵測極限(Limit of Detection, LOD):將已知濃度之標準品溶液不斷稀釋,並以訊號雜訊比為 $\geq 3:1$ 時之濃度,作為偵測極限估計值。
2. 定量極限(Limit of Quantitation, LOQ):將已知濃度之標準品溶液不斷稀釋,並以訊號雜訊比為 $\geq 10:1$ 時之濃度,作為定量極限估計值。

(十) 添加回收率試驗

取已知大黃酚含量的決明子藥材粉末 5 份,每份準確稱取約 0.25 g,分別加入 1 mL 的大黃酚溶液(500 $\mu\text{g/mL}$),並按檢品溶液製備方法操作測定。

(十一) HPLC 分析條件

1. 層析管:Phenomenex Luna 5U C_{18} Column (250 $\times$ 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長:UV 254 nm
3. 流速:1.0 mL/min
4. 管柱溫度:35 $^{\circ}\text{C}$
5. 注入量:10 μL
6. 移動相:

時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	40	60
15	40	60
30	90	10
40	90	10

(十二) 臺灣市售決明子藥材含量測定

取 10 批市售決明子藥材依檢品溶液製備方法製備檢品溶液,取各 10 μL 連續 3 針注入 HPLC,所得平均波峰面積依附錄 I 公式計算樣品大黃酚的百分含量。

(十三) 決明子檢品之 UPLC 層析條件

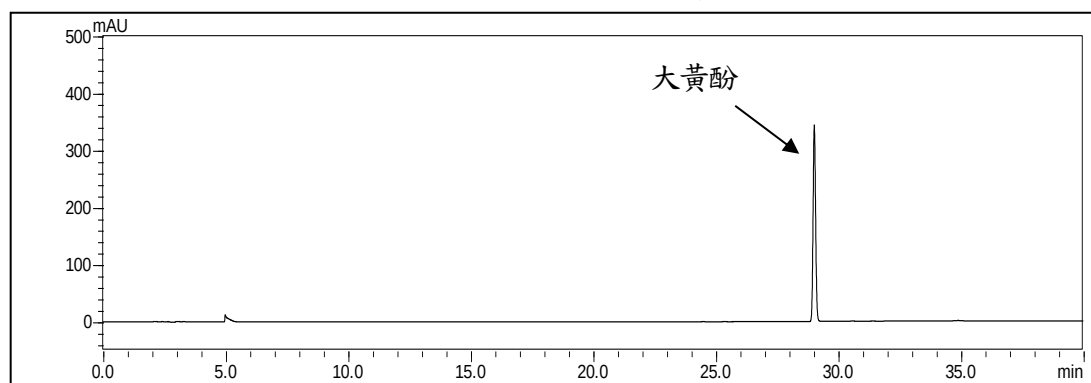
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 µm)
2. 檢測波長：UV 254 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 µL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	40	60
2	40	60
6	90	10
8	90	10
10	100	0

五、結果

(一) 標準品大黃酚之 HPLC 層析

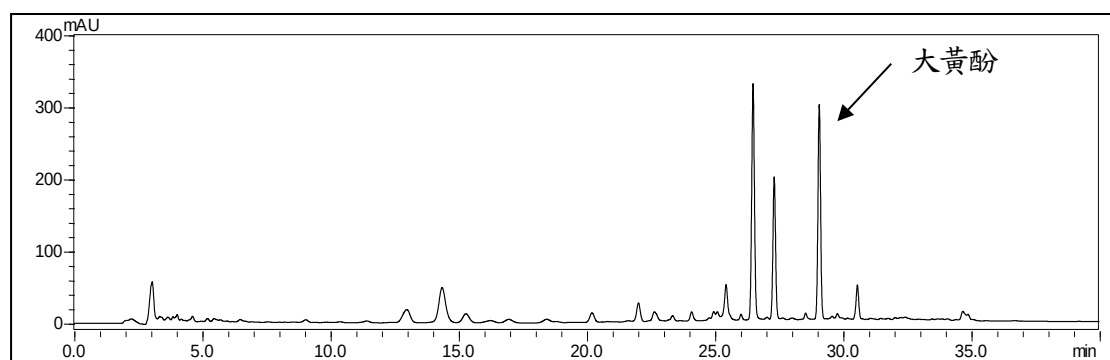
於滯留時間 29.09 分鐘處顯示大黃酚標準品波峰。



圖一、大黃酚標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售決明子檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 29.10 分鐘處顯示決明子檢品中大黃酚波峰(圖二)。分離率(R)為 9.28，托尾因子(T)為 1.01，均在系統適用性要求內。



圖二、市售決明子檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳溶解溶媒評估

以甲醇為溶媒時，每克藥材重量所得大黃酚的波峰面積最大，顯示甲醇為最佳溶解溶媒。

表一、不同溶解溶媒比較

溶解溶媒	大黃酚波峰面積(mAU)	最佳萃取
無水乙醇：乙酸乙酯(2：1)混合溶液	1998740	
甲醇	2011764	√

(四) 最佳萃取條件評估

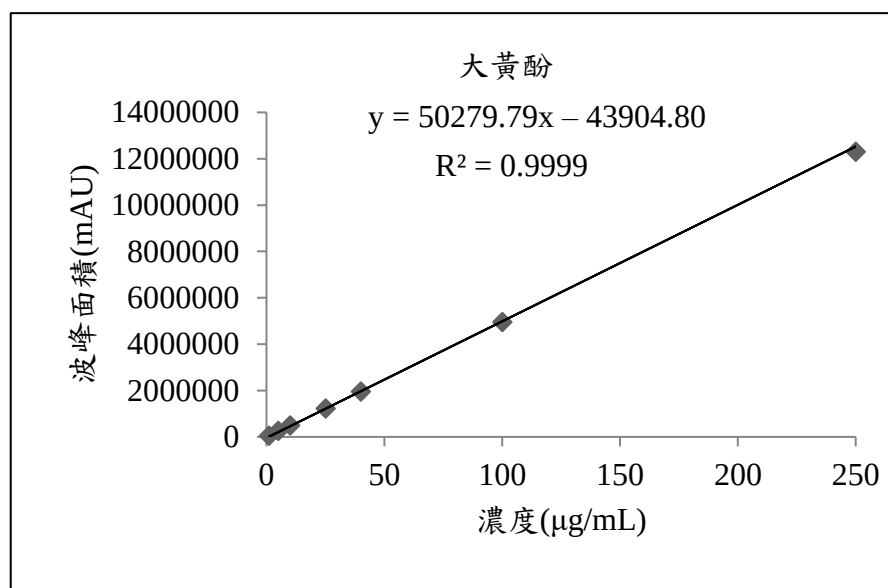
結果顯示加熱時間 3 小時，所得大黃酚的波峰面積最大。

表二、最佳萃取條件評估

加熱時間	大黃酚波峰面積(mAU)
1 小時	1988143
2 小時	1948740
3 小時	2289279
4 小時	2278238

(五) 標準品大黃酚檢量線

經不同濃度大黃酚 (x) 對各自層析波峰面積的反應值(y)所得到的檢量線方程式為 $y = 50279.79x - 43904.80$ ， $R^2 = 0.9999$ ，顯示濃度在 1.0–250 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、大黃酚之檢量線圖

表三、大黃酚檢量線方程式

對照標準品	濃度(μg/mL)	線性回歸方程式	R^2
大黃酚	1.0–250	$y = 50279.79x - 43904.80$	0.9999

(六) 精密度試驗

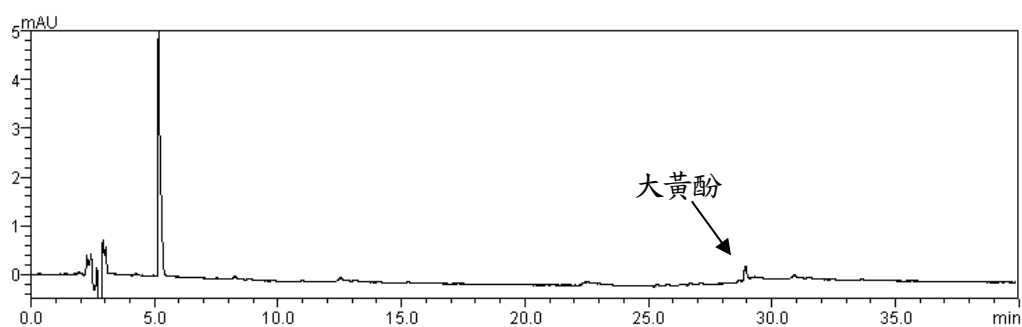
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，大黃酚精密度之相對標準差為 0.11%，在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

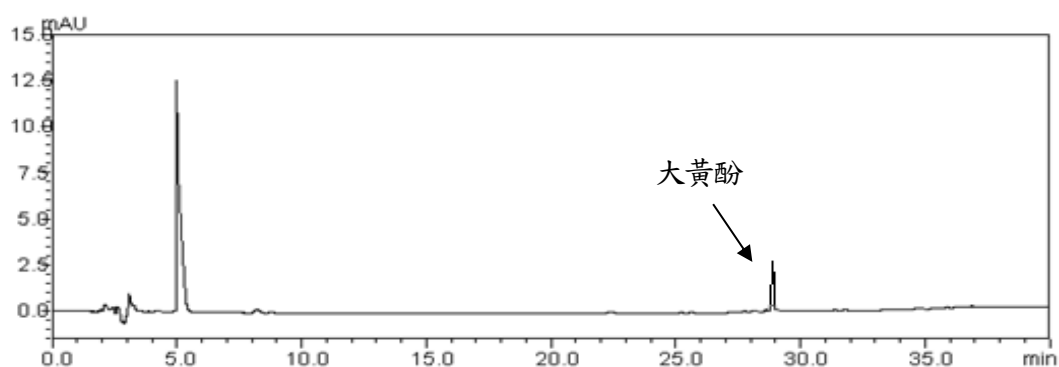
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，大黃酚重複性之相對標準差為 1.38%，在系統適用性要求內。大黃酚在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準差為 1.42%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

大黃酚偵測極限為 0.03 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 0.10 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、大黃酚之偵測極限層析圖



圖五、大黃酚之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	大黃酚	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	40 $\mu\text{g/mL}$	0.11
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.8)	1.38
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.8)	1.42
偵測極限 (n=3)	0.03 $\mu\text{g/mL}$	-
定量極限 (n=3)	0.10 $\mu\text{g/mL}$	-

(九) 添加回收率試驗

大黃酚平均添加回收率為 95.5%，相對標準偏差為 2.15%。

表五、大黃酚添加回收率

編號	藥材稱重 (g)	含有量 (mg)	加入量 (mg)	測得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	R.S.D. (%)
1	0.25	0.55	0.50	1.013	96.2	95.48	2.15
2	0.25	0.55	0.50	1.015	93.0		
3	0.25	0.55	0.50	1.041	98.2		
4	0.25	0.55	0.50	1.032	96.4		
5	0.25	0.55	0.50	1.018	93.6		

(十) 臺灣市售決明子含量測定

10 批決明子藥材之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，大黃酚的含量為 0.144–0.301%。建議決明子藥材指標成分大黃酚的含量不得少於 0.20%。理論板數按大黃酚波峰計算應不低於 8000 (實際值為 300000)。

表六、臺灣市售決明子檢品之大黃酚的含量

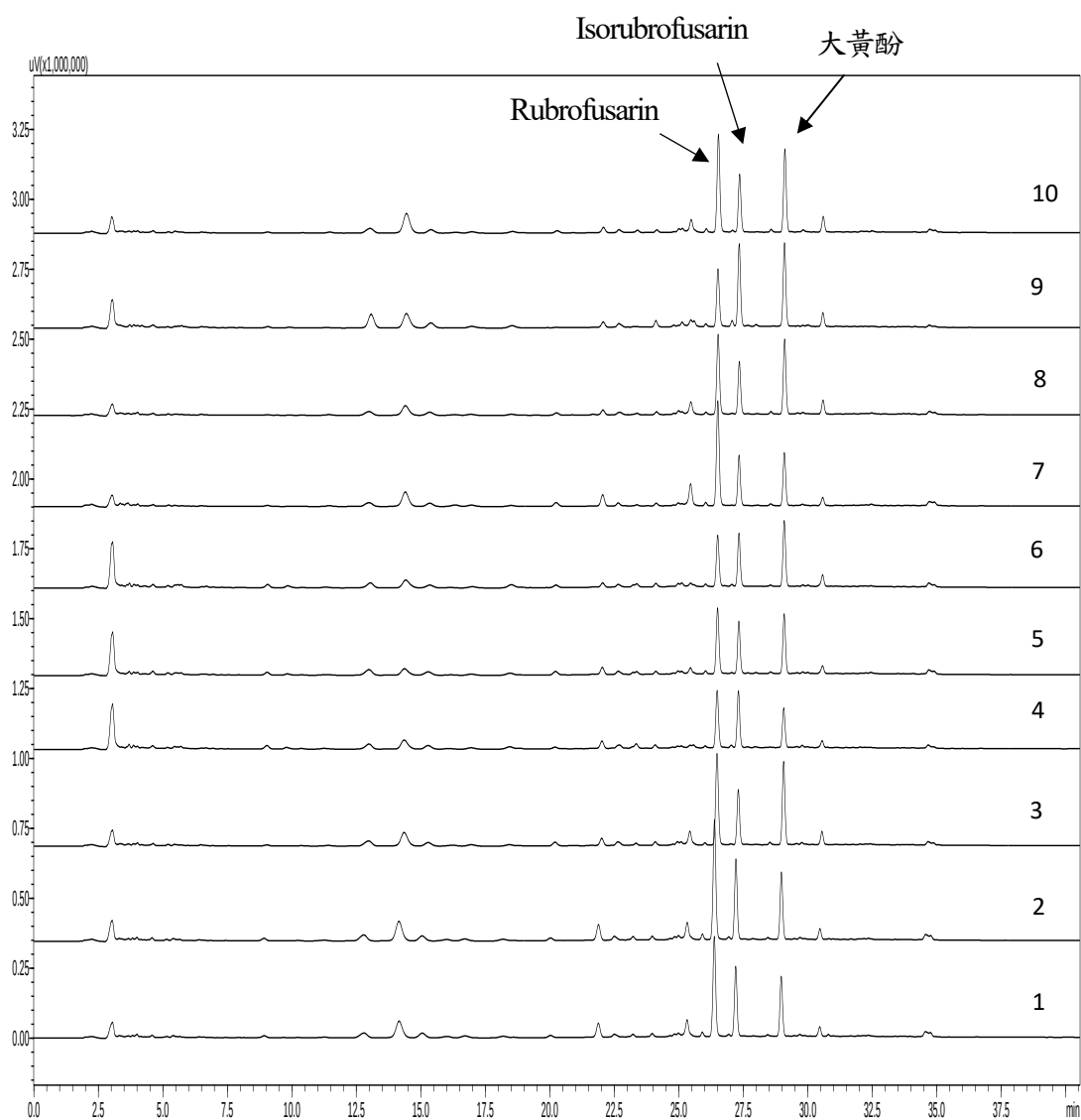
藥材編號(No.)	大黃酚含量(%)	藥材編號(No.)	大黃酚含量(%)
1 (NF-1)	0.227	6 (SC)	0.231
2 (NF-2)	0.229	7 (SG)	0.175
3 (NJ)	0.277	8 (SU-1)	0.225
4 (NN)	0.144	9 (SU-2)	0.295
5 (CA)	0.186	10 (SU-3)	0.301

(十一) 決明子藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售決明子檢品溶液各 10 μ L 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：Phenomenex Luna 5U C₁₈ Column (250 $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 254 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：35 $^{\circ}$ C
5. 注入量：10 μ L
6. 移動相：

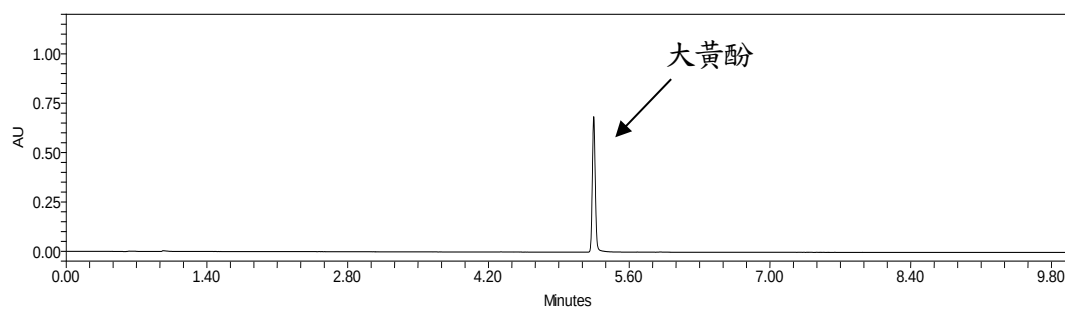
時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	40	60
15	40	60
30	90	10
40	90	10



圖六、10 批決明子藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 標準品大黃酚之 UPLC 層析

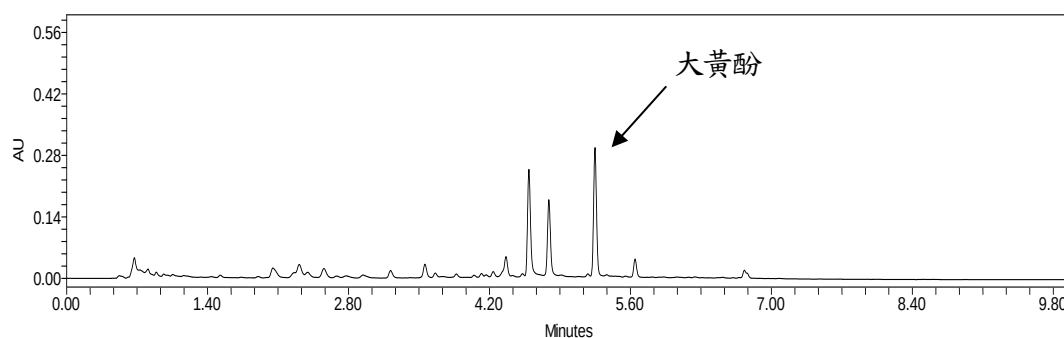
於滯留時間 5.25 分鐘處顯示大黃酚標準品的波峰(圖七)。



圖七、大黃酚標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售決明子檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 5.25 分鐘處顯示決明子檢品中大黃酚的波峰(圖八)。

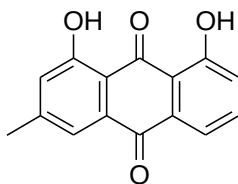


圖八、市售決明子檢品之 UPLC 層析圖

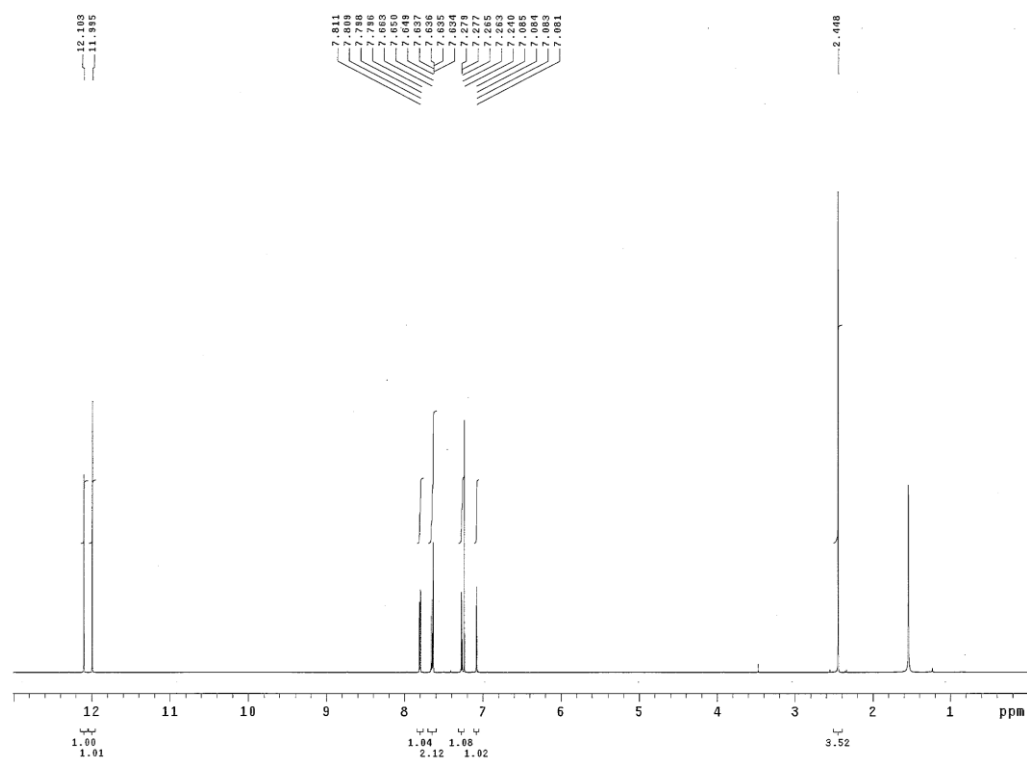
(十四) 大黃酚的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{15}H_{10}O_4$ ；分子量：254.24；熔點：196 °C；黃色晶體。

(十五) 大黃酚的結構

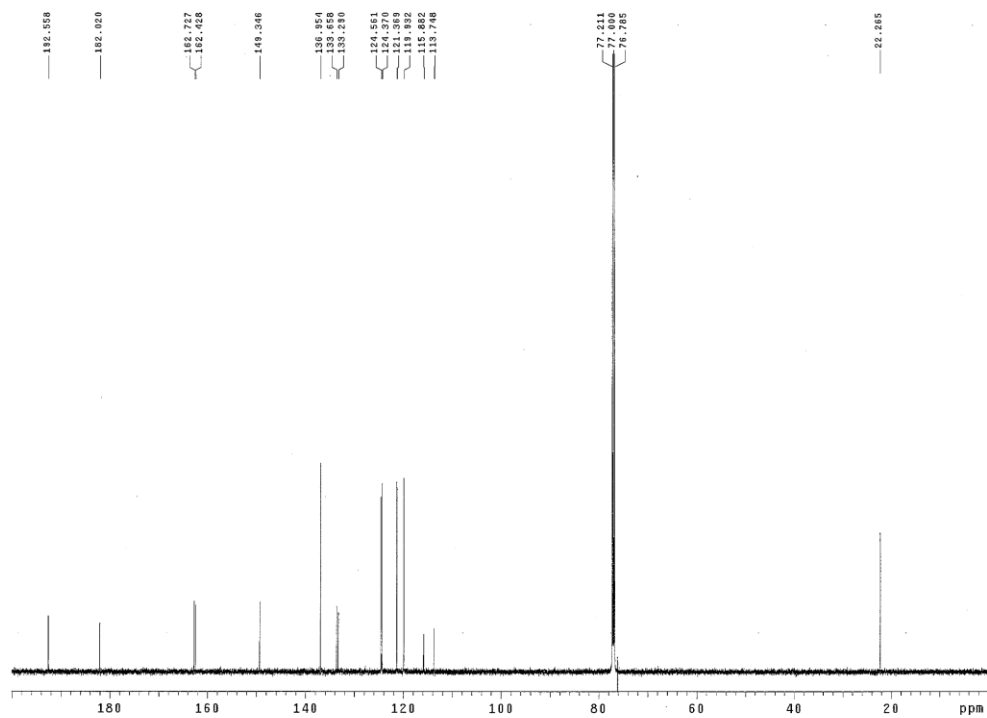


(十六) 大黃酚的 ^1H NMR 圖譜



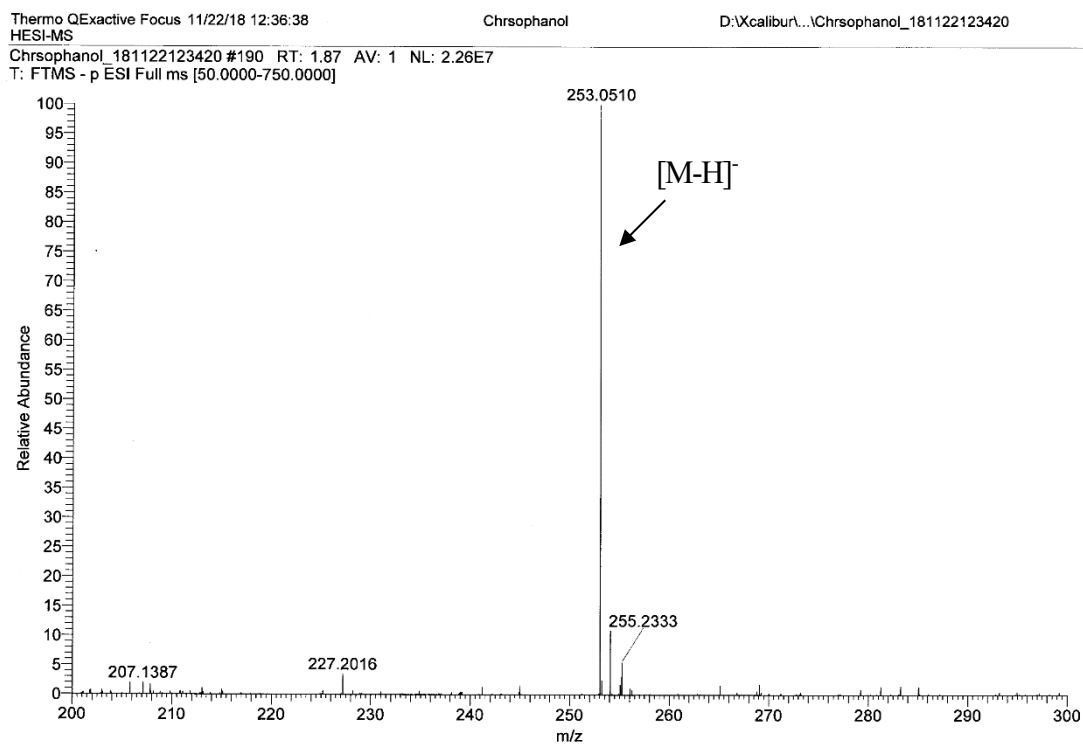
圖九、大黃酚的 ^1H NMR 圖譜(CDCl_3)

(十七) 大黃酚的 ^{13}C NMR 圖譜

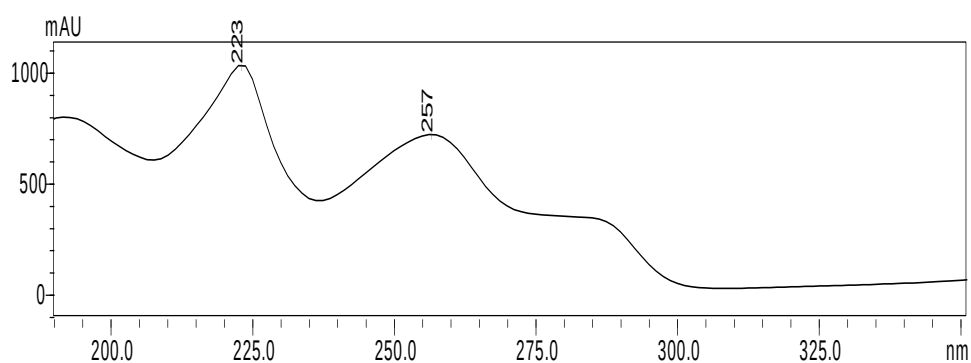


圖十、大黃酚的 ^{13}C NMR 圖譜(CDCl_3)

(十八) 大黃酚的 EI-MS 圖譜

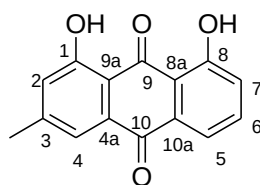


(二十) 大黃酚的 UV 圖譜



圖十三、大黃酚的 UV 圖譜

(二十一) 大黃酚的氫、碳化學位移



大黃酚

表七、大黃酚的氫、碳化學位移(CDCl₃)^a

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1	-	162.7
2	7.08–7.09 (m)	124.4
3	-	149.3
4	7.63–7.64 (m)	121.4
4a	-	133.7
5	7.80 (dd, 7.8, 1.2)	119.9
6	7.63–7.66 (m)	137.0
7	7.27 (dd, 8.4, 1.2)	124.6
8	-	162.4
8a	-	115.9
9	-	192.6
9a	-	113.7
10	-	182.0
10a	-	133.3
3-CH ₃	2.45 (s)	22.3
1-OH	12.0 (s)	-
8-OH	12.1 (s)	-

^a(Multiplicity, *J* in Hz) in ppm.

決明子飲片(CASSIAE SEMEN)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店決明子飲片共 10 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Shimadzu LC-2040C 3D, 包含 Quaternary pump、Autosampler、Thermostatted column compartment、Diode-Array Detector；層析管柱 Phenomenex Luna 5U C₁₈ Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)。

(二) UPLC 儀器及層析管柱

Waters AcQuity Ultra Performance LC, 包含 Binary Solvent Manager、Sampler Manager、PDA Detector；層析管柱 Waters ACQUITY UPLC® BEH C₁₈ Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)。

三、實驗藥品及試劑來源

(一) 試劑

乙腈(99.9%)購自於 Sigma-Aldrich；乙醇(95%)購自於國韶實業有限公司；甲醇(HPLC grade)購自於 Merck；乙酸乙酯購自於 Merck；鹽酸(35%)購自於 Sigma-Aldrich；磷酸(85%)購自於 Sigma-Aldrich。

(二) 標準品

標準品大黃酚(Chrysophanol)購自於友和貿易股份有限公司，純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳溶解溶媒評估

決明子飲片最佳溶解溶媒同決明子藥材。

(二) 最佳萃取條件評估

決明子飲片最佳萃取條件同決明子藥材。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取標準品大黃酚 0.5 mg，加 1 mL 的甲醇製成每 1 mL 含大黃酚 500 μg 的標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至 25 μg/mL 製成對照標準品溶液。

(四) 檢品溶液

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 0.5 g，置 100 mL 圓底瓶中，準確加入甲醇 50 mL，加熱迴流處理 3 小時，冷卻後，再稱取重量，用甲醇補足減失的重量，以 No. 1 濾紙過濾，取濾液，濃縮至乾，加 10% 鹽酸 30

mL，加熱迴流水解 1 小時，冷卻後，用乙酸乙酯萃取，取乙酸乙酯層，共萃取 4 次，每次 30 mL，合併乙酸乙酯層，溶劑濃縮至乾，殘渣用甲醇使之溶解，轉移至 25 mL 定量瓶中，加甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 μ m)，即得。

(五) 測定法

分別準確吸取對照標準品溶液、檢品溶液 10 μ L，注入 HPLC，測定，用標準曲線分別計算溶液中大黃酚的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取大黃酚標準品儲備溶液適量(500 μ g/mL)，以甲醇稀釋成含大黃酚分別為 250、100、40、25、10、5.0、1.0 μ g/mL 的標準品溶液。以上溶液各取 10 μ L 分別注入 HPLC 進行定量分析，利用標準品之波峰面積(y 軸)和標準品之濃度(x 軸)進行線性回歸，並求得檢量線之方程式 $y = ax + b$ 與相關係數 R^2 。

(七) 精密度試驗

以大黃酚濃度為 25 μ g/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以大黃酚的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性：取同一批市售決明子飲片粉末，依決明子飲片檢品溶液製備方法平行製備 5 份決明子飲片檢品溶液，進樣測定，以大黃酚的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售決明子飲片粉末，依決明子飲片檢品溶液製備方法製備決明子飲片檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以大黃酚的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(九) 偵測極限與定量極限試驗

1. 偵測極限(Limit of Detection, LOD)：將已知濃度之標準品溶液不斷稀釋，並以訊號雜訊比為 $\geq 3:1$ 時之濃度，作為偵測極限估計值。
2. 定量極限(Limit of Quantitation, LOQ)：將已知濃度之標準品溶液不斷稀釋，並以訊號雜訊比為 $\geq 10:1$ 時之濃度，作為定量極限估計值。

(十) 添加回收率試驗

取已知大黃酚含量的決明子飲片粉末 5 份，每份準確稱取約 0.25 g，分別加入 1 mL 的大黃酚溶液(300 μ g/mL)，並按檢品溶液製備方法操作測定。

(十一) HPLC 分析條件

1. 層析管：Phenomenex Luna 5U C₁₈ Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：UV 254 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：10 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	40	60
15	40	60
30	90	10
40	90	10

(十二) 臺灣市售決明子飲片含量測定

取 10 批市售決明子飲片依檢品溶液製備方法製備檢品溶液，取各 10 μL 連續 3 針注入 HPLC，所得平均波峰面積依附錄 I 公式計算樣品大黃酚的百分含量。

(十三) 決明子飲片檢品之 UPLC 層析條件

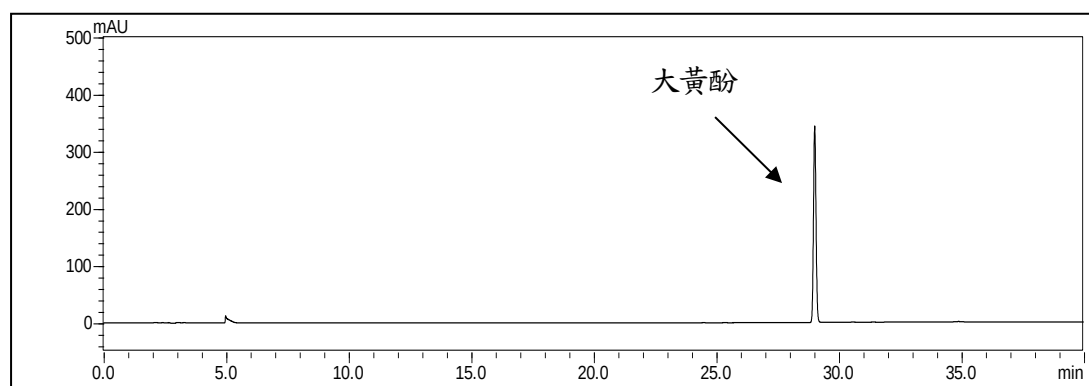
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C₁₈ Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 254 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	40	60
2	40	60
6	90	10
8	90	10
10	100	0

五、結果

(一) 標準品大黃酚之 HPLC 層析

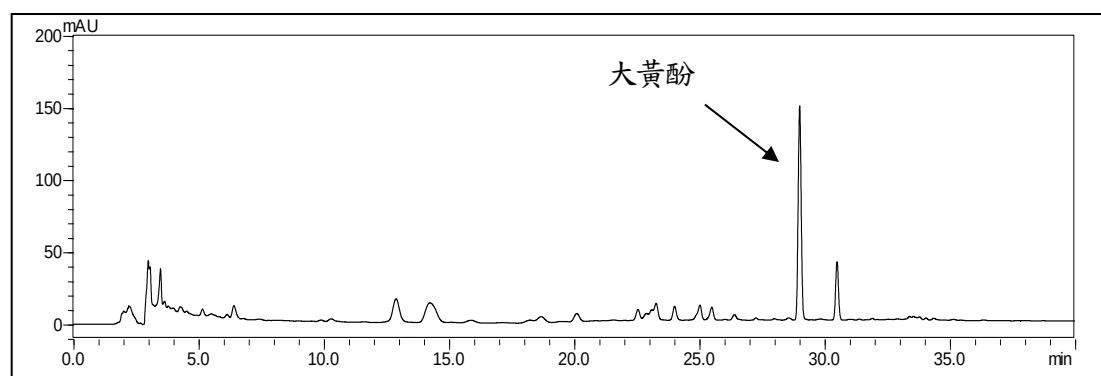
於滯留時間 29.09 分鐘處顯示大黃酚標準品波峰。



圖一、大黃酚標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售決明子飲片檢品之 HPLC 層析

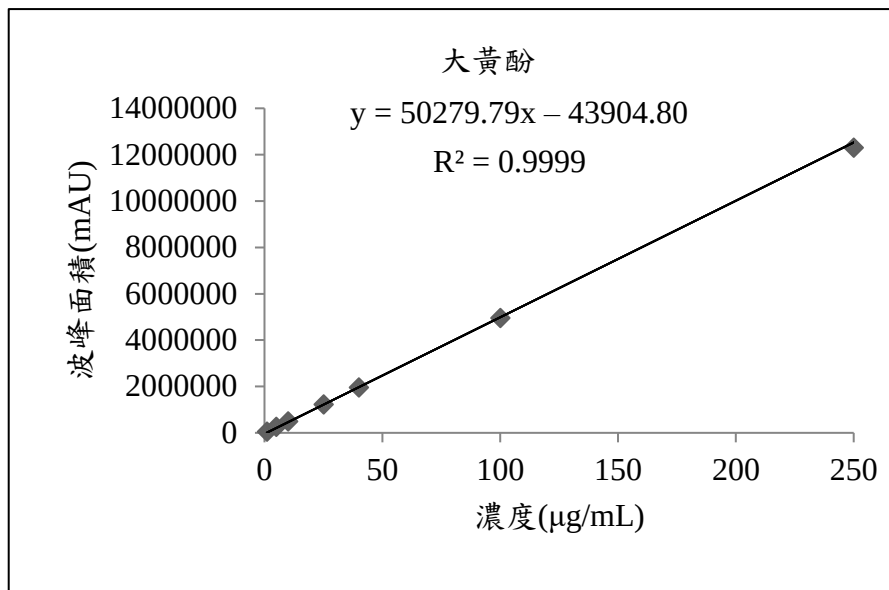
於滯留時間 29.05 分鐘處顯示決明子飲片檢品中大黃酚波峰(圖二)。分離率(R)為 2.18，托尾因子(T)為 1.01，均在系統適用性要求內。



圖二、市售決明子飲片之 HPLC 層析圖

(三) 標準品大黃酚檢量線

經不同濃度大黃酚 (x)對各自層析波峰面積的反應值(y)所得到的檢量線方程式為 $y = 50279.79x - 43904.80$ ， $R^2 = 0.9999$ ，顯示濃度在 1.0–250 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、大黃酚之檢量線圖

表一、大黃酚之檢量線方程式

對照標準品	濃度(µg/mL)	線性回歸方程式	R^2
大黃酚	1.0–250	$y = 50279.79x - 43904.80$	0.9999

(四) 精密度試驗

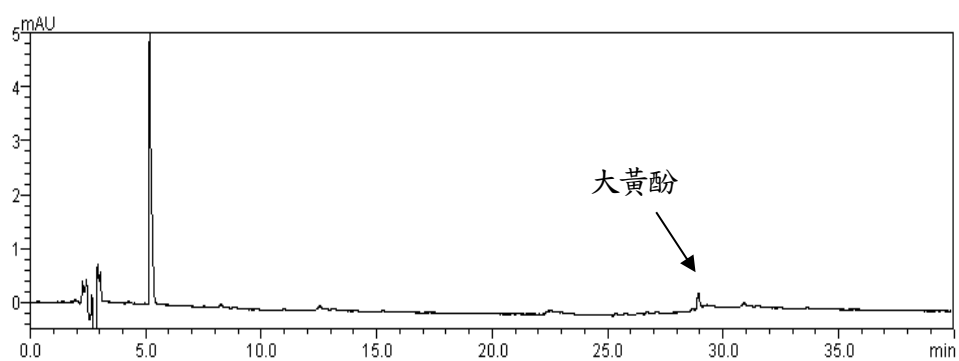
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，大黃酚精密度之相對標準差為 0.08%，均在系統適用性要求內。

(五) 重複性與穩定性試驗

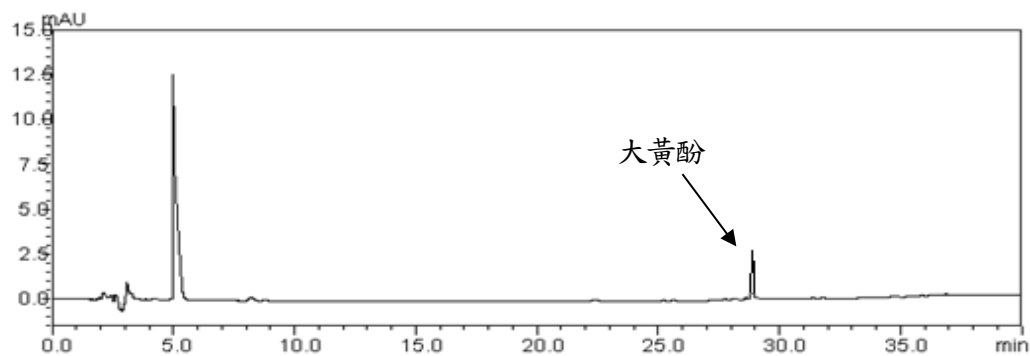
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，大黃酚重複性之相對標準差為 0.43%，在系統適用性要求內。大黃酚在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準差為 0.44%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(六) 偵測極限與定量極限試驗

大黃酚偵測極限為 0.03 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 0.10 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、大黃酚之偵測極限層析圖



圖五、大黃酚之定量極限層析圖

表二、各項檢驗分析

檢測項目	大黃酚	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	25 $\mu\text{g/mL}$	0.08
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.2)	0.43
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.2)	0.44
偵測極限 (n=3)	0.03 $\mu\text{g/mL}$	-
定量極限 (n=3)	0.10 $\mu\text{g/mL}$	-

(七) 添加回收率試驗

大黃酚平均添加回收率為 94.3%，相對標準偏差為 0.82%。

表三、大黃酚添加回收率

編號	藥材稱重 (g)	含有量 (mg)	加入量 (mg)	測得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	R.S.D. (%)
1	0.25	0.34	0.30	0.621	93.67	94.33	0.82
2	0.25	0.34	0.30	0.624	94.67		
3	0.25	0.34	0.30	0.624	94.67		
4	0.25	0.34	0.30	0.620	93.33		
5	0.25	0.34	0.30	0.626	95.33		

(八) 臺灣市售決明子飲片含量測定

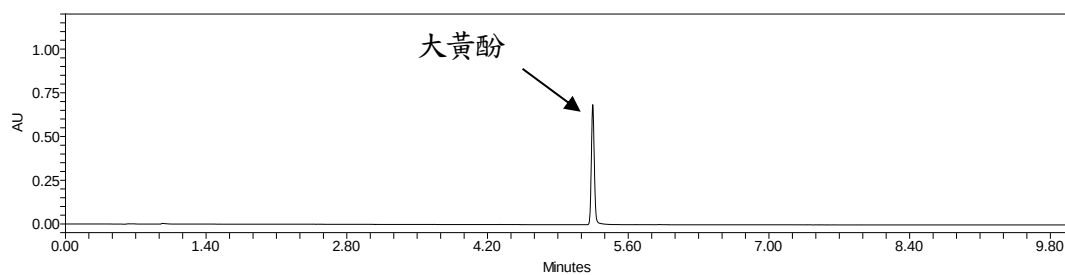
10 批決明子飲片之含量測定結果(乾燥品)如表四所示，大黃酚的含量為 0.044–0.168%。建議決明子飲片指標成分大黃酚的含量不得少於 0.08%。理論板數按大黃酚波峰計算應不低於 8000 (實際值為 200000)。

表四、臺灣市售決明子飲片檢品之大黃酚的含量

藥材編號(No.)	大黃酚含量(%)	藥材編號(No.)	大黃酚含量(%)
1 (ND)	0.168	6 (SC)	0.081
2 (NF)	0.136	7 (SF)	0.065
3 (NN)	0.050	8 (SU-1)	0.112
4 (CA)	0.081	9 (SU-2)	0.044
5 (SA)	0.053	10 (SU-3)	0.061

(九) 標準品大黃酚之 UPLC 層析

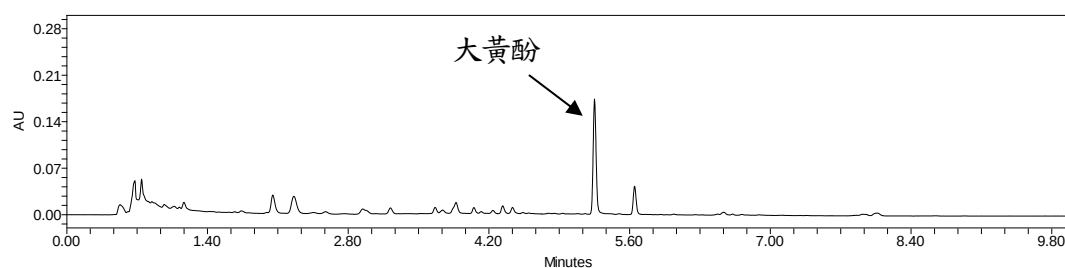
於於滯留時間 5.25 分鐘處顯示大黃酚標準品的波峰(圖六)。



圖六、大黃酚標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十) 市售決明子飲片檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 5.25 分鐘處顯示決明子檢品中大黃酚的波峰(圖七)。



圖七、市售決明子飲片檢品之 UPLC 層析圖

決明子

生藥名：CASSIAE SEMEN

英文名：Cassia Seed

基 原：本品為豆科 Leguminosae 植物決明 *Cassia obtusifolia* L. 或小決明 *Cassia tora* L. 之乾燥成熟種子。

一、方法

(一) 檢 品 溶 液 **【萃取方法 1】(自行開發)**

——取本品粉末 1.0 g，加甲醇 20 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，濾液濃縮至乾，殘渣加甲醇 1 mL 使之溶解，作為檢品溶液。

【萃取方法 2】(修飾臺灣中藥典第三版 2018) ✓

——取本品粉末 1.0 g，加入甲醇 10 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，濾液濃縮至乾，殘渣加入水 10 mL，再加入鹽酸 1 mL，加熱迴流 30 分鐘，冷卻後，用乙酸乙酯分 2 次萃取，每次 20 mL，合併有機層，濃縮至乾，殘渣加甲醇 1 mL 使之溶解，作為檢品溶液。

【萃取方法 3】(修飾香港中藥材標準第三冊)

——取本品粉末 0.5 g，加 70% 乙醇 10 mL，超音波振盪 20 分鐘，過濾，濾液濃縮至乾，殘渣加乙醇 1 mL 使之溶解，作為檢品溶液。

(二) 對照標準品 取大黃酚(Chrysophanol)對照標準品，加甲醇製成每 1.0 mL 含 1.0 mg 的溶液，作為對照標準品溶液。

(三) 薄 層 板 HPTLC silica gel 60 F₂₅₄，10 cm × 10 cm、20 cm × 10 cm

(四) 展 開 劑 **【展開劑 1】(修飾台灣藥典第三版 2018)**

——正己烷：乙酸乙酯：甲酸 (15：5：1) ✓

【展開劑 2】(修飾中華人民共和國藥典 2015)

——正己烷：丙酮 (5：1)

(五) 展 開 槽 10 cm × 10 cm、20 cm × 10 cm

(六) 展 開 展開槽預先平衡 15 分鐘，上行展開，展開距離 8 cm。

(七) 顯色&檢視 於主波長 365 nm 之紫外燈照射檢視之。

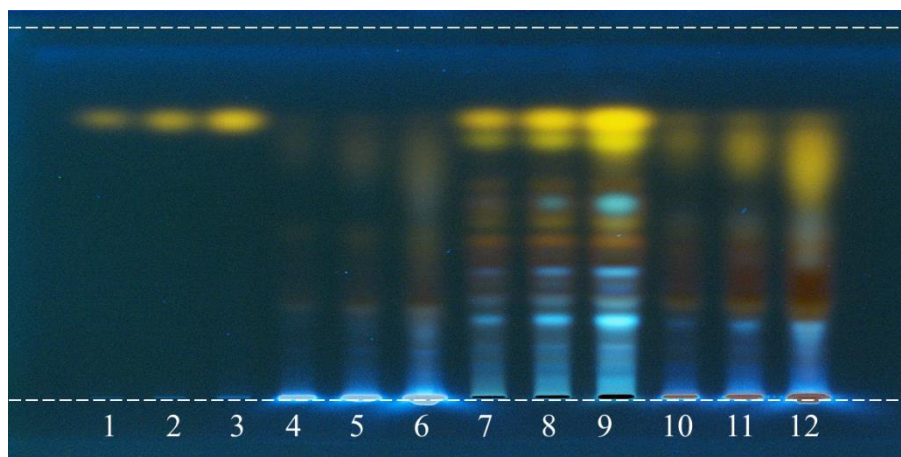
二、萃法選擇及濃度測試

實驗日期：107/11/30

相對溼度(RH)：47%

溫度(RT)：26 °C

【展開劑 1】 (修飾台灣藥典第三版 2018)——正己烷：乙酸乙酯：甲酸 (15：5：1)



編號	名稱	點注量
1, 2, 3	大黃酚(1.0 mg/mL)	1, 2, 5 μ L
4, 5, 6	檢品溶液 7 【萃取方法 1】	1, 2, 5 μ L
7, 8, 9	檢品溶液 7 【萃取方法 2】	1, 2, 5 μ L
10, 11, 12	檢品溶液 7 【萃取方法 3】	1, 2, 5 μ L

建議萃法：3 種萃法之檢品溶液中，只有臺灣中藥典萃法有分離與檢出標準品大黃酚，故選擇修飾臺灣中藥典第三版 2018 之萃法【萃取方法 2】。

建議點注量：大黃酚標準品溶液 2 μ L，檢品溶液【萃取方法 2】2 μ L。

三、溶媒系統選擇

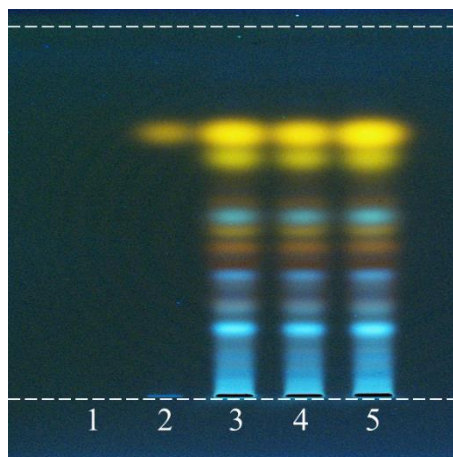
實驗日期：107/11/30

相對溼度(RH)：47%

溫度(RT)：26 °C

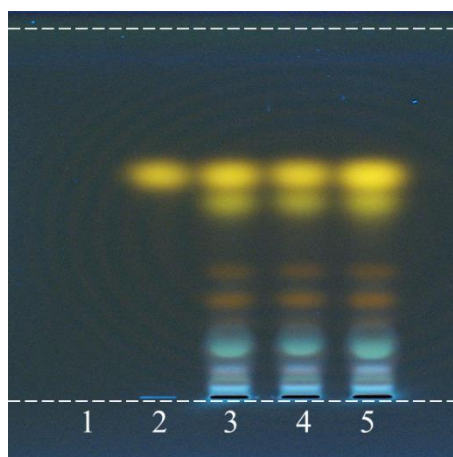
【展開劑 1】(修飾臺灣中藥典第三版 2018)——正己烷：乙酸乙酯：甲酸 (15：5：1)

【萃取方法 2】(修飾臺灣中藥典第三版 2018)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出 (大黃酚 R_f 值為 0.73)



【展開劑 2】(修飾中華人民共和國藥典 2015)——正己烷：丙酮 (5：1)

【萃取方法 2】(修飾臺灣中藥典第三版 2018)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出 (大黃酚 R_f 值為 0.63)



1：Blank

2：大黃酚

3，4：檢品溶液 7

5：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 2】方式，由兩種展開劑展開可從檢品溶液中分離與檢出大黃酚，因有條帶顯示較清楚，故採用修飾臺灣中藥典第三版 2018 之【展開劑 1】。

四、觀察方式選擇

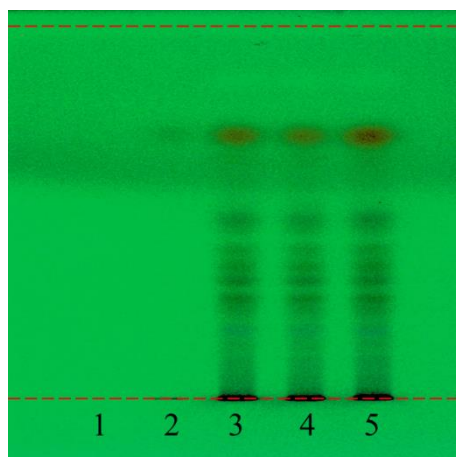
實驗日期：107/11/30

相對溼度(RH)：47%

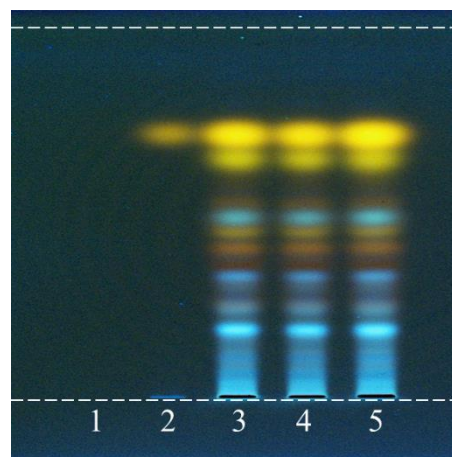
溫度(RT)：26 °C

【展開劑 1】(修飾臺灣中藥典第三版 2018)——正己烷：乙酸乙酯：甲酸 (15：5：1)

【萃取方法 2】(修飾臺灣中藥典第三版 2018) — HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



【萃取方法 2】(修飾臺灣中藥典第三版 2018) — HPTLC 紫外光(365 nm)檢出✓



1：Blank

2：大黃酚

3，4：檢品溶液 7

5：Spike

建議觀察方式：於紫外光(365 nm)下顯示出較紫外光(254 nm)有較多明顯之條帶及大黃酚標準品斑點。

五、十批決明子藥材樣品檢測

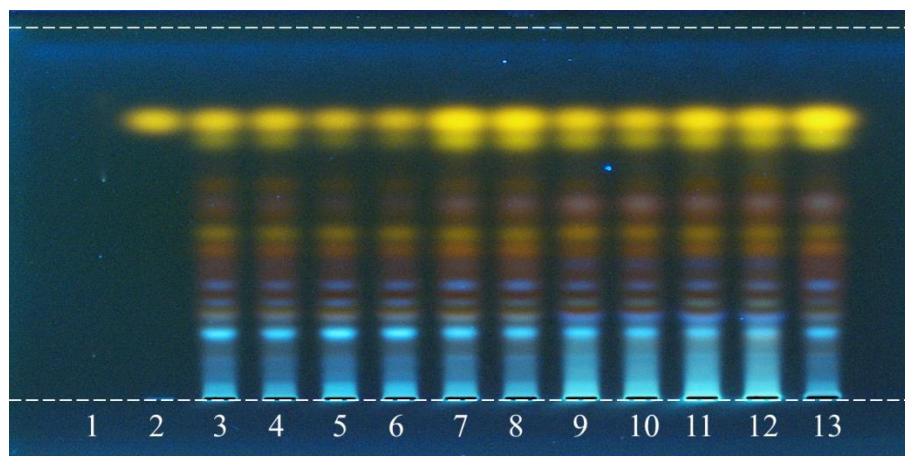
實驗日期：107/12/02

相對溼度(RH)：45%

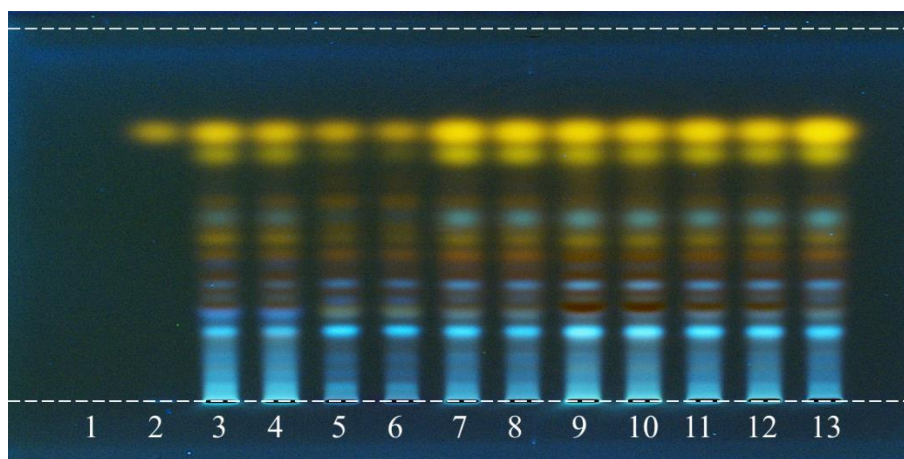
溫度(RT)：27 °C

【展開劑 1】(修飾臺灣中藥典第三版 2018)——正己烷：乙酸乙酯：甲酸 (15：5：1)

【萃取方法 2】(修飾臺灣中藥典第三版 2018)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



1	Blank
2	大黃酚(1.0 mg/mL)
3 , 4	檢品溶液 1 (NF-1)
5 , 6	檢品溶液 2 (NF-2)
7 , 8	檢品溶液 3 (NJ)
9 , 10	檢品溶液 4 (NN)
11 , 12	檢品溶液 5 (CA)
13	Spike (檢品溶液 7)



1	Blank
2	大黃酚(1.0 mg/mL)
3, 4	檢品溶液 6 (SC)
5, 6	檢品溶液 7 (SG)
7, 8	檢品溶液 8 (SU-1)
9, 10	檢品溶液 9 (SU-2)
11, 12	檢品溶液 10 (SU-3)
13	Spike (檢品溶液 7)

結論與建議：以修飾臺灣中藥典第三版 2018 之【萃取方法 2】方式，以修飾臺灣中藥典第三版 2018 之【展開劑 1】，顯示很好的分離效果，於紫外光(365 nm)下檢視較佳。

決明子(飲片)

六、十批決明子飲片檢測

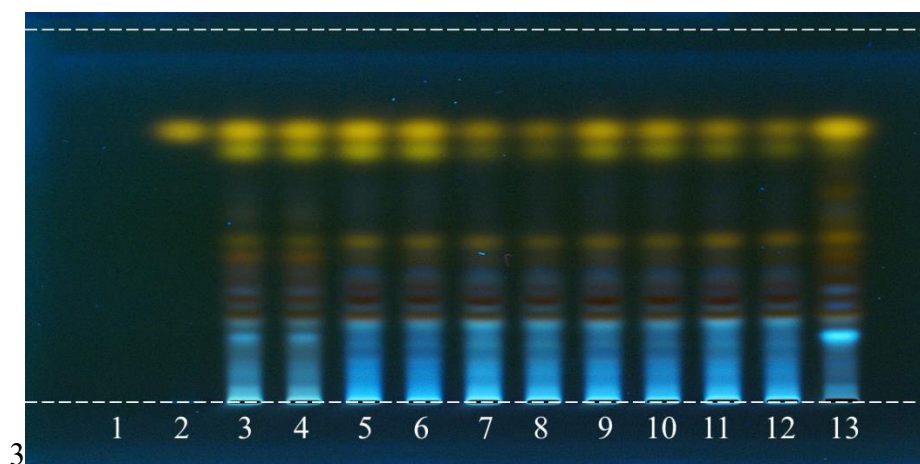
實驗日期：107/12/02

相對溼度(RH)：45%

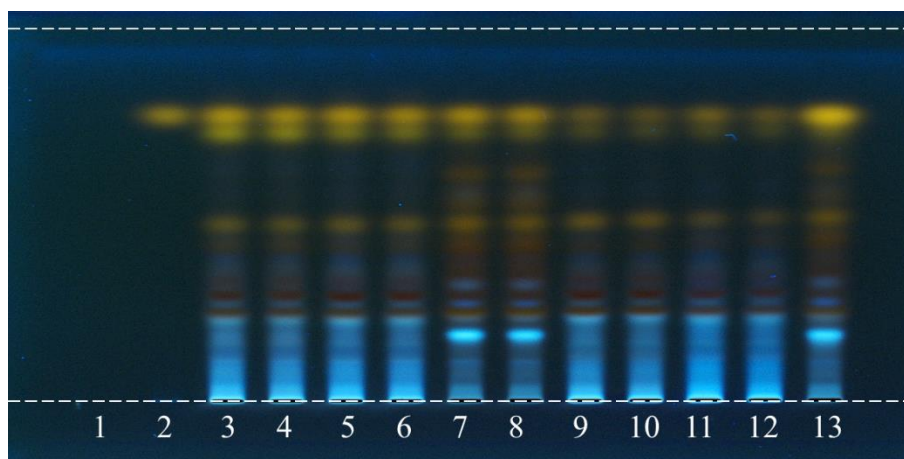
溫度(RT)：27 °C

【展開劑 1】(修飾臺灣中藥典第三版 2018)——正己烷：乙酸乙酯：甲酸 (15：5：1)

【萃取方法 2】(修飾臺灣中藥典第三版 2018)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



1	Blank
2	大黃酚(1.0 mg/mL)
3 , 4	檢品溶液 1 (ND)
5 , 6	檢品溶液 2 (NF)
7 , 8	檢品溶液 3 (NN)
9 , 10	檢品溶液 4 (CA)
11 , 12	檢品溶液 5 (SA)
13	Spike (檢品溶液 7)



1	Blank
2	大黃酚(1.0 mg/mL)
3 , 4	檢品溶液 6 (SC)
5 , 6	檢品溶液 7 (SF)
7 , 8	檢品溶液 8 (SU-1)
9 , 10	檢品溶液 9 (SU-2)
11 , 12	檢品溶液 10 (SU-3)
13	Spike (檢品溶液 7)

結論與建議：飲片鑑別同藥材。