

蘇木

(SAPPAN LIGNUM)

蘇木 MI	2
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)	2
四、藥材粉末顯微鑑別(圖3)	3
蘇木 HPLC (藥材)	7
一、材料	7
二、儀器及層析管柱	7
三、實驗藥品及試劑來源	7
四、方法	7
五、結果	11
蘇木 TLC (藥材)	27
一、方法	27
二、萃法選擇及濃度測試	28
三、溶媒系統選擇	29
四、觀察方式選擇	31
五、十批蘇木藥材樣品檢測	33
蘇木 HPLC (飲片)	35
一、材料	35
二、儀器及層析管柱	35
三、實驗藥品及試劑來源	35
四、方法	35
五、結果	38
蘇木 TLC (飲片)	45
一、方法	45
二、萃法選擇及濃度測試	46
三、溶媒系統選擇	47
四、觀察方式選擇	49
五、十批蘇木飲片樣品檢測	51

蘇木

(SAPPAN LIGNUM)

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蘇木的乾燥心材。

二、藥材性狀描述(圖 1)

藥材名：蘇木

生藥名：SAPPAN LIGNUM

英文名：Sappan Wood

基原：本品為豆科 Leguminosae 植物蘇木 *Caesalpinia sappan* L.之乾燥心材。

採收加工：全年均可採收，多在 5~7 月間，將樹砍下取樹幹，除去粗皮及邊材，取其黃紅色或紅棕色的心材，曬乾，刨成薄片或劈成小塊片。

藥材性狀：本品已切成長條形小棒狀，長約 3~10 cm，厚約 0.1~1.0 cm，呈紅棕色或黃棕色，表面有縱紋，有刀削痕及細小的凹入油孔。斷面強纖維性。浸入水中會將水染成桃紅色。質堅硬。無臭，味微澀。

生長分佈：落葉灌木或小喬木，喜陽、耐旱、忌陰和積水，能耐輕霜。對土壤要求不甚嚴格，砂質壤土和粘性的黃土壤均可生長。生於高溫多濕、陽光充足、排水良好的平地或坡地。花期 4~6 月，果期 7 月~翌年 3 月。分布於福建、廣東、廣西、海南、貴州、雲南、台灣等地。

三、藥材組織顯微鑑別(圖 2)

1. 本品心材橫切面，導管類圓形，直徑約至 140 μm ，單個或 2~4 個徑向排列。
2. 木纖維呈多角形，胞壁極厚，木化。
3. 木射線細胞 1 列，細胞長圓形，可見紋孔。
4. 本品心材縱切面，導管壁具緣紋孔，兩端平截或斜置。
5. 木纖維細胞呈長方形，壁孔明顯。
6. 射線細胞呈類方形或類長圓形。

四、藥材粉末顯微鑑別(圖 3)

1. 本品粉末黃紅色。
2. 木纖維極多，成束。細長，直徑 9~15 μm ，纖維壁木化，壁厚或稍厚，胞腔線型或較寬大。偏光顯微鏡下呈現多彩色。
3. 纖維束周圍細胞含草酸鈣方晶，形成晶纖維。含晶細胞壁不均勻增厚，木化。偏光顯微鏡下呈現多彩色。
4. 草酸鈣方晶直徑可達 45 μm 。偏光顯微鏡下呈現亮白色至多彩色。
5. 木射線細胞，徑向縱斷面碎片細胞呈長方形，壁木化。
6. 導管為有緣孔紋導管，紋孔橢圓或短縫狀。直徑 25~50 μm 。
7. 細胞內可見棕色物質。

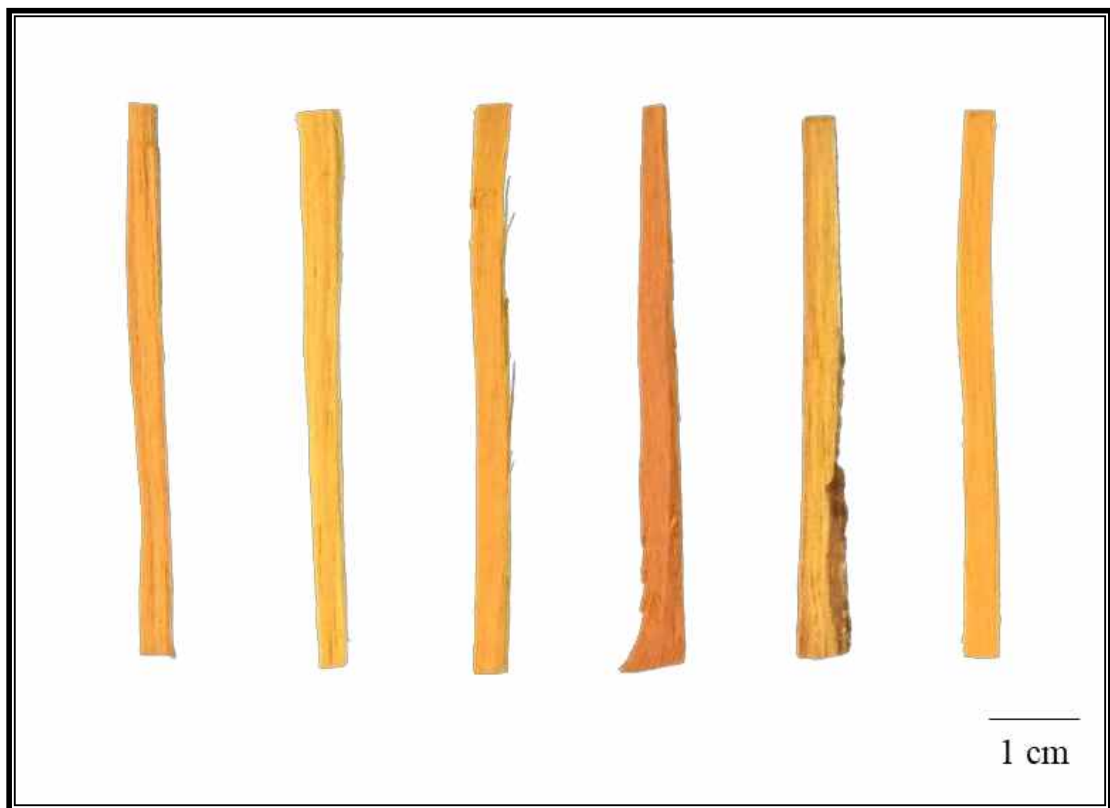


圖 1 蘇木藥材圖

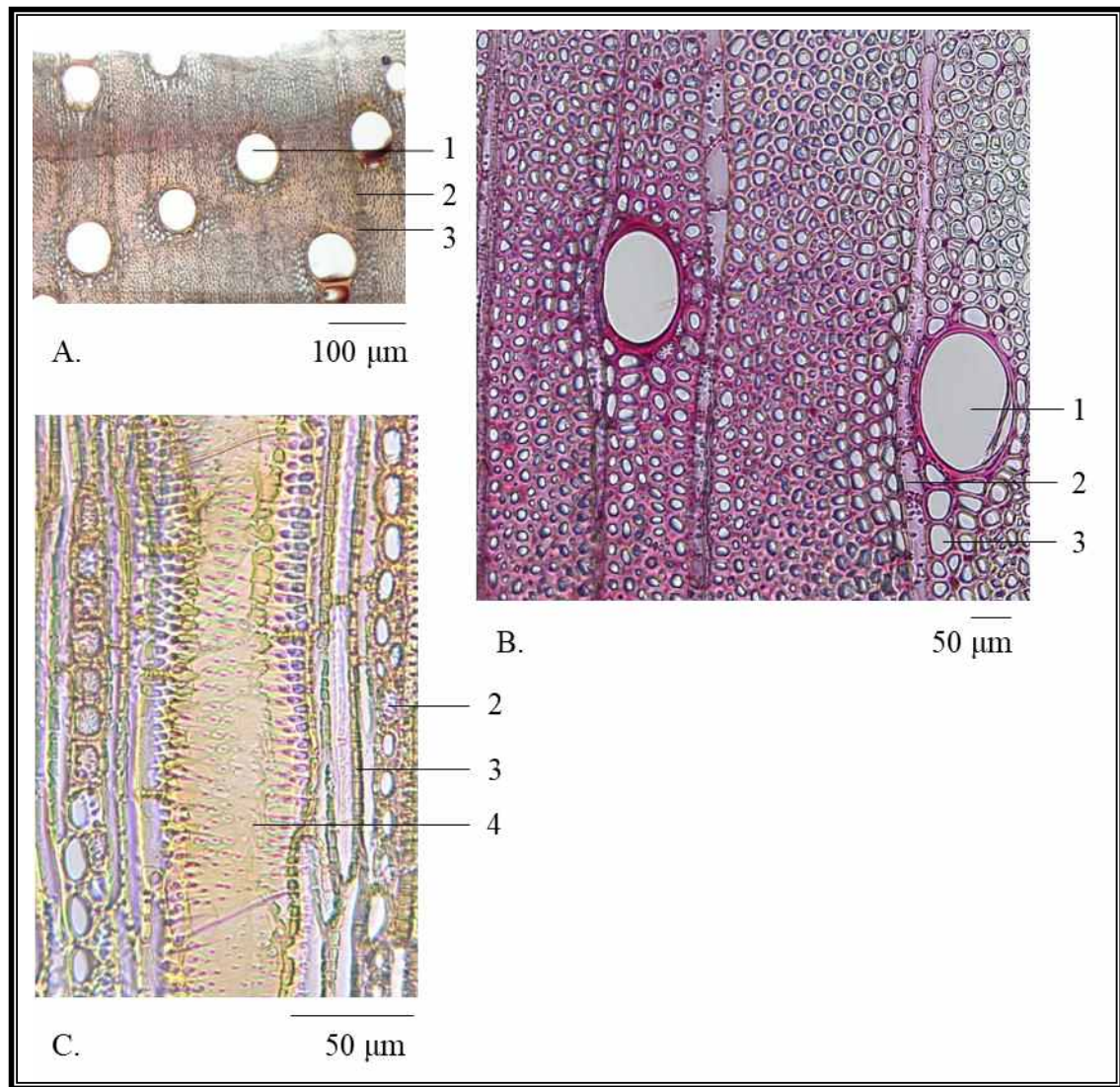


圖 2 蘇木橫切面與縱切面顯微特徵圖

A.橫切面 B.橫切面放大圖 C.縱切面

1.導管 2.木射線 3.木纖維 4.有緣孔紋導管

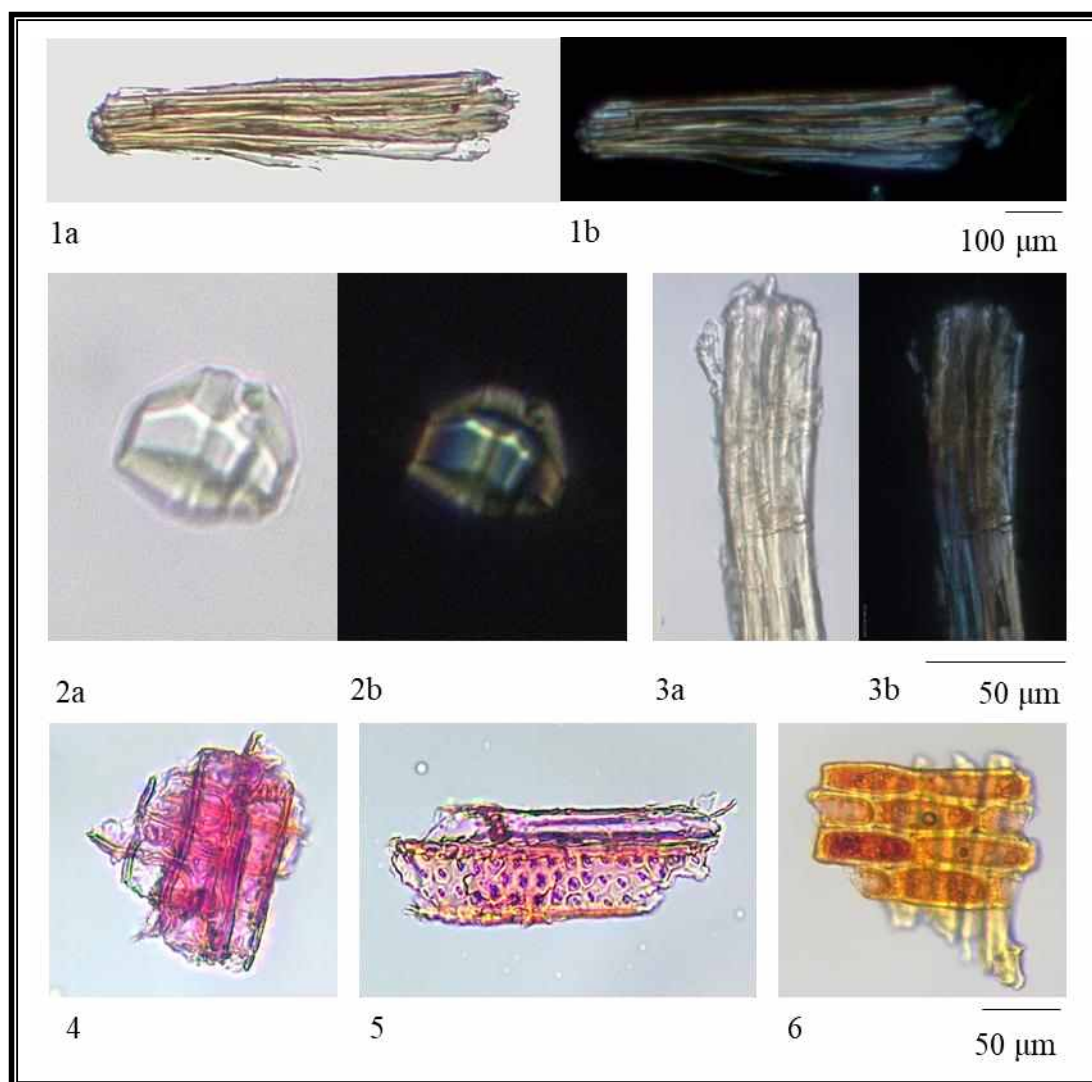


圖 3 蘇木粉末顯微特徵圖

a. 光學顯微鏡下特徵 b. 偏光顯微鏡下特徵

1. 纖維 2. 草酸鈣方晶 3. 晶纖維 4. 木射線 5. 有緣紋孔導管 6. 棕色物質

參考文獻

1. 衛生福利部臺灣中藥典第四版編輯工作小組(2021)。臺灣中藥典第四版。臺北市：衛生福利部。436~437頁。
2. 行政院衛生署中醫藥委員會(2009)。中藥彩色圖鑑。臺北市。行政院衛生署中醫藥委員會。191 頁。
3. 衛生福利部臺灣中藥典圖鑑編輯委員會(2013)。臺灣中藥典圖鑑。臺北市：衛生福利部。292~293 頁。
4. 肖培根(主編)(2002)。新編中藥志第三卷。北京：化學工業出版社。735~739 頁。
5. 黃璐琦(總主編)(2020)。新編中國藥材學第六卷。北京：中國醫藥科技出版社。238~240 頁
6. 徐乃良、岑麗華(1990)。名貴中草藥栽培技術。廣西：廣西民族出版社。237~241 頁。
7. 陸美英、仇志榮(1992)。藥用植物栽培與加工。上海：上海中醫學院出版社。251~253 頁。
8. 吳彥杰(2001)。蘇木與偽品蘇木的生藥鑑別。時珍國醫國藥 2001 年第 12 卷第 9 期。
9. 國家藥典委員會(2020)。中華人民共和國藥典。北京：中國醫藥科技出版社。171 頁。
10. 國家藥典委員會(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。225 頁。

蘇木(SAPPAN LIGNUM)

一、材料

購置於臺灣各地中藥店蘇木藥材共 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 Agilent ZORBAX SB-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、Sample 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

甲醇(HPLC grade)購置於 Duksan Pure Chemicals Co., Ltd。

(二) 對照標準品

巴西蘇木素(Brazilin)、原蘇木素 B (Protosappanin B)購置於普思生物科技公司，純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取溶媒評估

取本品粉末 6 份，每份準確稱取約 1.0 g，置 100 mL 圓底瓶中，準確加入甲醇、75%甲醇、50%甲醇、乙醇、75%乙醇、50%乙醇各 50 mL，加熱迴流 20 分鐘，冷卻後以 No. 1 濾紙過濾，取濾液移入 50 mL 之容量瓶中，加入溶媒至刻度。搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.45 μm)，即得。每針 10 μL 注入 HPLC，以所測得每克重量之原蘇木素 B 及巴西蘇木素最大波峰面積為最佳蘇木藥材萃取溶媒。

(二) 最佳萃取時間評估

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)4 份，每份準確稱取約 0.1 g，分別置 100 mL 圓底瓶中，準確加入 50%甲醇 50 mL，分別加熱迴流 20 分鐘、30 分鐘、60 分鐘及 120 分鐘，冷卻後以 No. 1 濾紙過濾，取濾液移入 50 mL 之容量瓶中，加入溶媒至刻度。搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.45 μm)，即得。每針 10 μL 注入 HPLC，以所測得每克重量之原蘇木素 B 及巴西蘇木

素最大波峰面積為最佳蘇木藥材萃取時間。

(三) 對照標準品溶液

1. 準確稱取對照標準品巴西蘇木素 4.0 mg，加 10 mL 的 50% 甲醇製成每 1 mL 巴西蘇木素 400 μg 的對照標準品儲備溶液，並以 50% 甲醇稀釋至巴西蘇木素 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 製成對照標準品溶液。
2. 準確稱取對照標準品原蘇木素 B 4.0 mg，加 10 mL 的 50% 甲醇製成每 1 mL 含原蘇木素 B 400 μg 的對照標準品儲備溶液，並以 50% 甲醇稀釋至原蘇木素 B 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 製成對照標準品溶液。

(四) 檢品溶液

準確稱取本品粉末(過 No.20 篩網)約 1.0 g，置 100 mL 圓底瓶中，準確加入 50% 甲醇 50 mL，加熱迴流 30 分鐘，冷卻後以 No.1 濾紙過濾，取濾液移入 50 mL 之容量瓶中，加入 50% 甲醇至刻度。搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.45 μm)，即得。

(五) 測定法

分別準確吸取對照標準品溶液、檢品溶液 10 μL ，注入 HPLC，測定，用標準曲線計算溶液中巴西蘇木素及原蘇木素 B 的含量，即得。

(六) 檢量線

1. 準確吸取巴西蘇木素對照標準品儲備液適量(400 $\mu\text{g}/\text{mL}$)，以 50% 甲醇稀釋成含巴西蘇木素分別為 400、200、100、50、25、10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的對照標準品溶液。以上溶液各取 10 μL 分別注入 HPLC 進行定量分析，利用對照標準品之波峰面積(y 軸)和對照標準品之濃度(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 。
2. 準確吸取原蘇木素 B 對照標準品儲備液適量(400 $\mu\text{g}/\text{mL}$)，以 50% 甲醇稀釋成含原蘇木素 B 分別為 400、200、100、50、25、10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的對照標準品溶液。以上溶液各取 10 μL 分別注入 HPLC 進行定量分析，利用對照標準品之波峰面積(y 軸)和對照標準品之濃度(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

1. 以巴西蘇木素為 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以巴西蘇木素的波峰面積為指標，求出相對標準差。
2. 以原蘇木素 B 為 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以原蘇木素 B 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：取同一批市售蘇木藥材粉末，依蘇木藥材檢品溶液製備方法平行製備 5 份蘇木藥材檢品溶液，進樣測定，以巴西蘇木素及原蘇木素 B 的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售蘇木藥材粉末，依蘇木藥材檢品溶液製備方法製備蘇木藥材檢品溶液，分別在 0、2、4、8、24 小時進樣測定，以巴西蘇木素及原蘇木素 B 的含量為指標，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 Quantification, 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

1. 取已知巴西蘇木素含量的蘇木藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 0.5 g，分別加入巴西蘇木素 3.5 mg，並按檢品溶液製備方法操作測定。
2. 取已知原蘇木素 B 含量的蘇木藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 0.5 g，分別加入原蘇木素 B 3.0 mg，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：Agilent ZORBAX SB-C18 Column (250 × 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 285 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：10 μ L
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	水(%)
0	20	80
60	20	80

(十二) 臺灣市售蘇木藥材含量測定

取 10 批市售蘇木藥材依檢品溶液製備方法製備檢品溶液，取各 10 μ L 連續 3 針注入 HPLC，所得平均波峰面積依附錄 I 公式計算樣品巴西蘇木素及原蘇木素 B 的百分比含量。

(十三) 蘇木檢品之 UPLC 分析條件

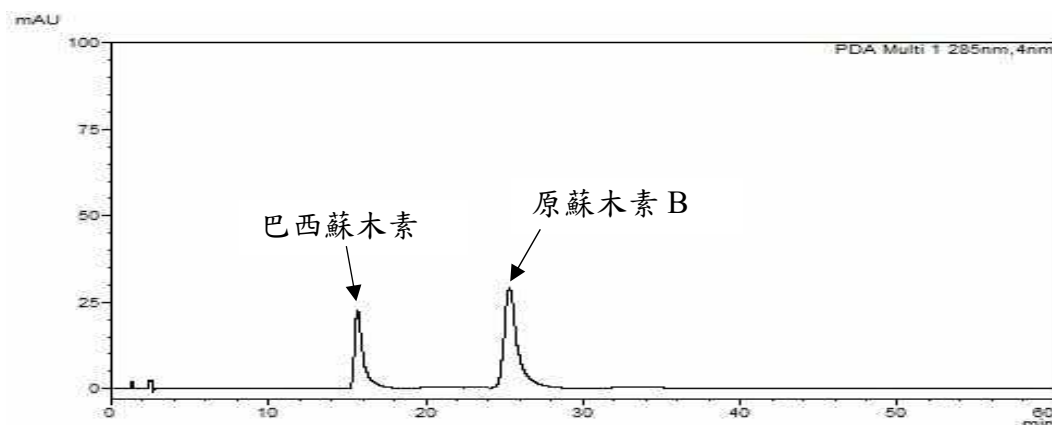
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 µm)
2. 檢測波長：UV 285 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 µL
6. 移動相：

時間(min)	甲 醇(%)	水(%)
0	20	80
10	20	80

五、結果

(一) 對照標準品巴西蘇木素與原蘇木素 B 之 HPLC 層析

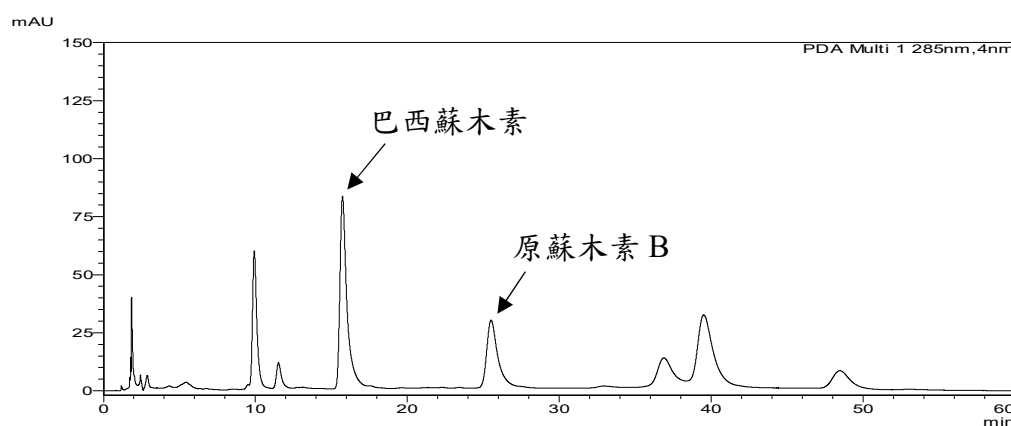
於滯留時間 15.6 及 25.3 分鐘處顯示巴西蘇木素及原蘇木素 B 對照標準品波峰(圖一)。



圖一、原蘇木素 B 及巴西蘇木素對照標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售蘇木藥材檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 15.7 與 25.5 分鐘處顯示蘇木藥材檢品中巴西蘇木素與原蘇木素 B 波峰(圖二)。巴西蘇木素分離率(R) 12.3，拖尾因子(T)為 1.2；原蘇木素 B 分離率(R)為 9.9，拖尾因子(T)為 1.1，均在系統適用性要求內。



圖二、市售蘇木藥材檢品之 HPLC 層析圖

表一、巴西蘇木素與原蘇木素 B 之分離率與拖尾因子

	巴西蘇木素	原蘇木素 B
分離率	12.3	9.9
拖尾因子	1.2	1.1

(三) 最佳萃取溶媒評估

以 50% 甲醇溶液為溶媒時，每克藥材重量所得巴西蘇木素與原蘇木素 B 的波峰面積相對較高，顯示 50% 甲醇溶液為最佳萃取溶媒(表二)。

表二、不同萃取溶媒評估

溶媒	巴西蘇木素波峰面積	原蘇木素 B 波峰面積	最佳萃取
甲醇	1846180	1803563	
75% 甲醇	1939925	1745713	
50% 甲醇	1909041	1778612	√
乙醇	1195044	1677260	
75% 乙醇	1840127	1747108	
50% 乙醇	1825326	1803927	

(四) 最佳萃取次數評估

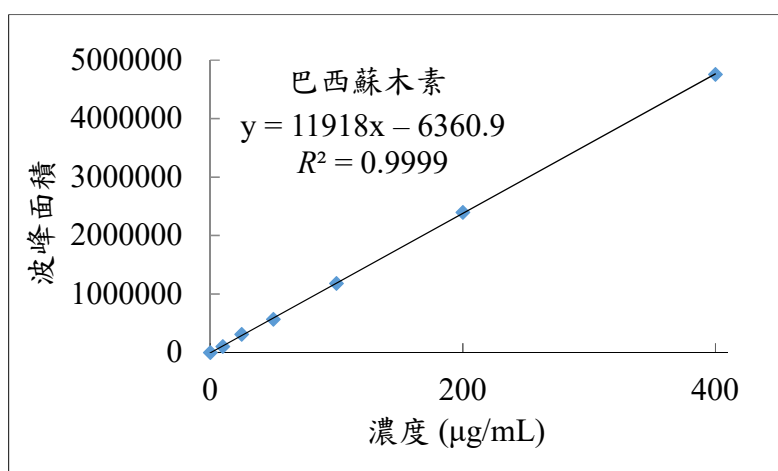
結果顯示萃取 2 次基本上已將巴西蘇木素與原蘇木素 B 萃取完全(萃取率皆大於 98%)(表三)。

表三、蘇木藥材檢品萃取次數評估

甲醇	巴西蘇木素 波峰面積	原蘇木素 B 波峰面積
第 1 次	1181298	1461400
第 2 次	83223	81668
第 3 次	22293	13619
第 4 次	N.D.	N.D.

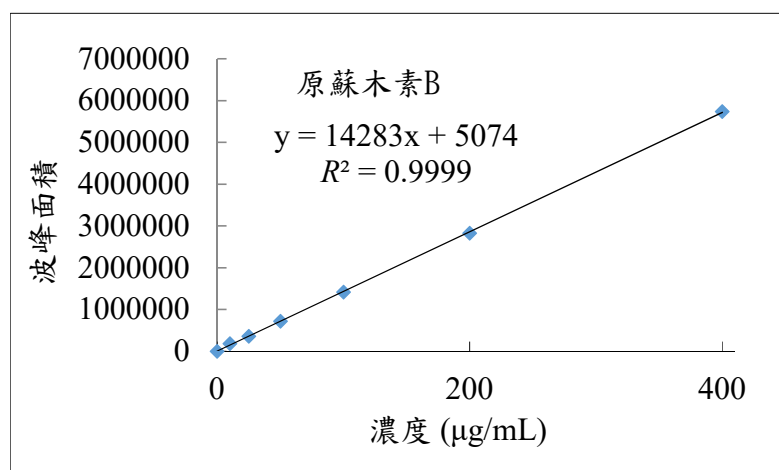
(五) 對照標準品巴西蘇木素與原蘇木素 B 檢量線

1. 經不同濃度巴西蘇木素(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 $y = 11918x - 6360.9$, $R^2 = 0.9999$, 顯示濃度在 10–400 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、巴西蘇木素之檢量線圖

2. 經不同濃度原蘇木素 B (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 $y = 14283x + 5074$ ， $R^2 = 0.9999$ ，顯示濃度在 10–400 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖四)。



圖四、原蘇木素 B 之檢量線圖

表四、巴西蘇木素與原蘇木素 B 之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
巴西蘇木素	10–400	$y = 11918x - 6360.9$	0.9999
原蘇木素 B	10–400	$y = 14283x + 5074$	0.9999

(六) 精密度試驗

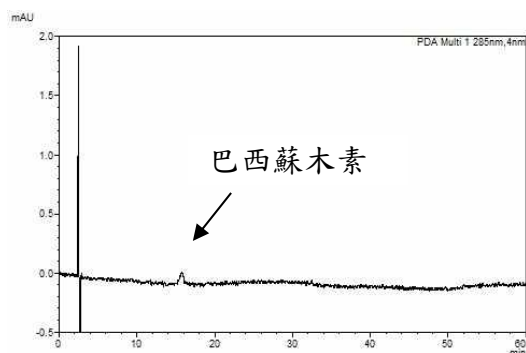
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，巴西蘇木素與原蘇木素 B 精密度之相對標準差分別為 0.40%與 0.07%，均在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

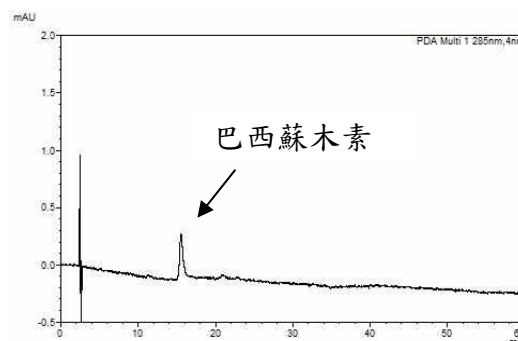
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，巴西蘇木素與原蘇木素 B 重複性之相對標準差分別為 0.52%及 1.36%，均在系統適用性要求內。巴西蘇木素與原蘇木素 B 在 24 小時內穩定，穩定性相對標準差分別為 1.42%及 1.54%，變化差異小，若所有樣品分析都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

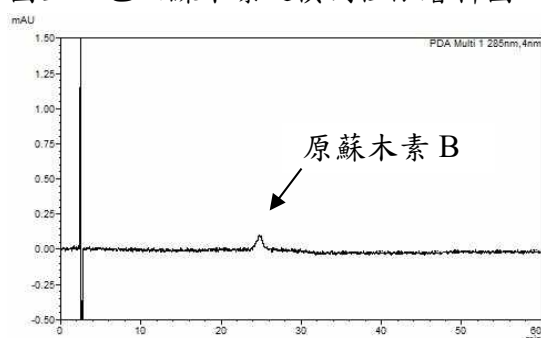
巴西蘇木素偵測極限為 0.50 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)，定量極限為 2.50 $\mu\text{g/mL}$ (圖六)。原蘇木素 B 偵測極限為 0.50 $\mu\text{g/mL}$ (圖七)，定量極限為 2.50 $\mu\text{g/mL}$ (圖八)。



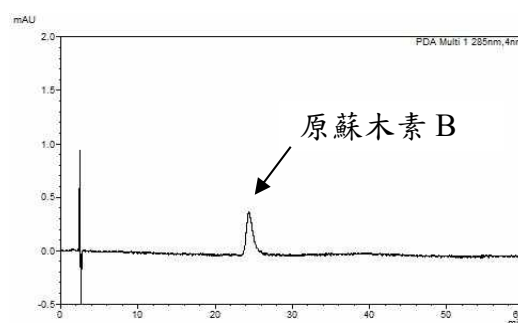
圖五、巴西蘇木素之偵測極限層析圖



圖六、巴西蘇木素之定量極限層析圖



圖七、原蘇木素 B 之偵測極限層析圖



圖八、原蘇木素 B 之定量極限層析圖

表五、各項檢驗分析

檢測項目	巴西蘇木素		原蘇木素 B	
	濃度	R.S.D. (%)	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	100 $\mu\text{g/mL}$	0.40	100 $\mu\text{g/mL}$	0.07
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.4)	0.52	檢品溶液(No.4)	1.36
穩定性 (n=5)	檢品溶液(No.4)	1.42	檢品溶液(No.4)	1.54
偵測極限 (n=1)	0.50 $\mu\text{g/mL}$	-	0.50 $\mu\text{g/mL}$	-
定量極限 (n=1)	2.50 $\mu\text{g/mL}$	-	2.50 $\mu\text{g/mL}$	-

(九) 添加回收率試驗

巴西蘇木素平均添加回收率為 95.9%，相對標準偏差為 2.66% (表六)。
原蘇木素 B 平均添加回收率為 93.6%，相對標準偏差為 0.67% (表七)。

表六、巴西蘇木素添加回收率

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	0.5003	3.2320	3.5	6.6517	97.70	95.9	2.66
2	0.5002	3.2313	3.5	6.5804	95.69		
3	0.5002	3.2313	3.5	6.5341	94.37		
4	0.5001	3.2307	3.5	6.4718	92.60		
5	0.5003	3.2320	3.5	6.6967	98.99		

表七、原蘇木素 B 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	0.5003	3.0463	3.0	5.8588	93.75	93.6	0.67
2	0.5002	3.0457	3.0	5.8276	92.73		
3	0.5002	3.0457	3.0	5.8495	93.46		
4	0.5001	3.0451	3.0	5.8666	94.05		
5	0.5003	3.0463	3.0	5.8780	94.39		

(十) 臺灣市售蘇木藥材含量測定

10 批蘇木藥材之含量測定結果(乾燥品)如表八所示，巴西蘇木素的含量為 0.672–1.187%，原蘇木素 B 的含量為 0.485–0.921%。巴西蘇木素與原蘇木素 B 的總含量為 1.342–2.053%，建議蘇木藥材指標成分巴西蘇木素與原蘇木素 B 的總含量不得少於 1.0%。理論板數按巴西蘇木素波峰計算應不低於 3000 (實際值為 6700)，按原蘇木素 B 波峰計算應不低於 3000 (實際值為 6420)。

表八、臺灣市售蘇木藥材檢品之巴西蘇木素與原蘇木素 B 的含量

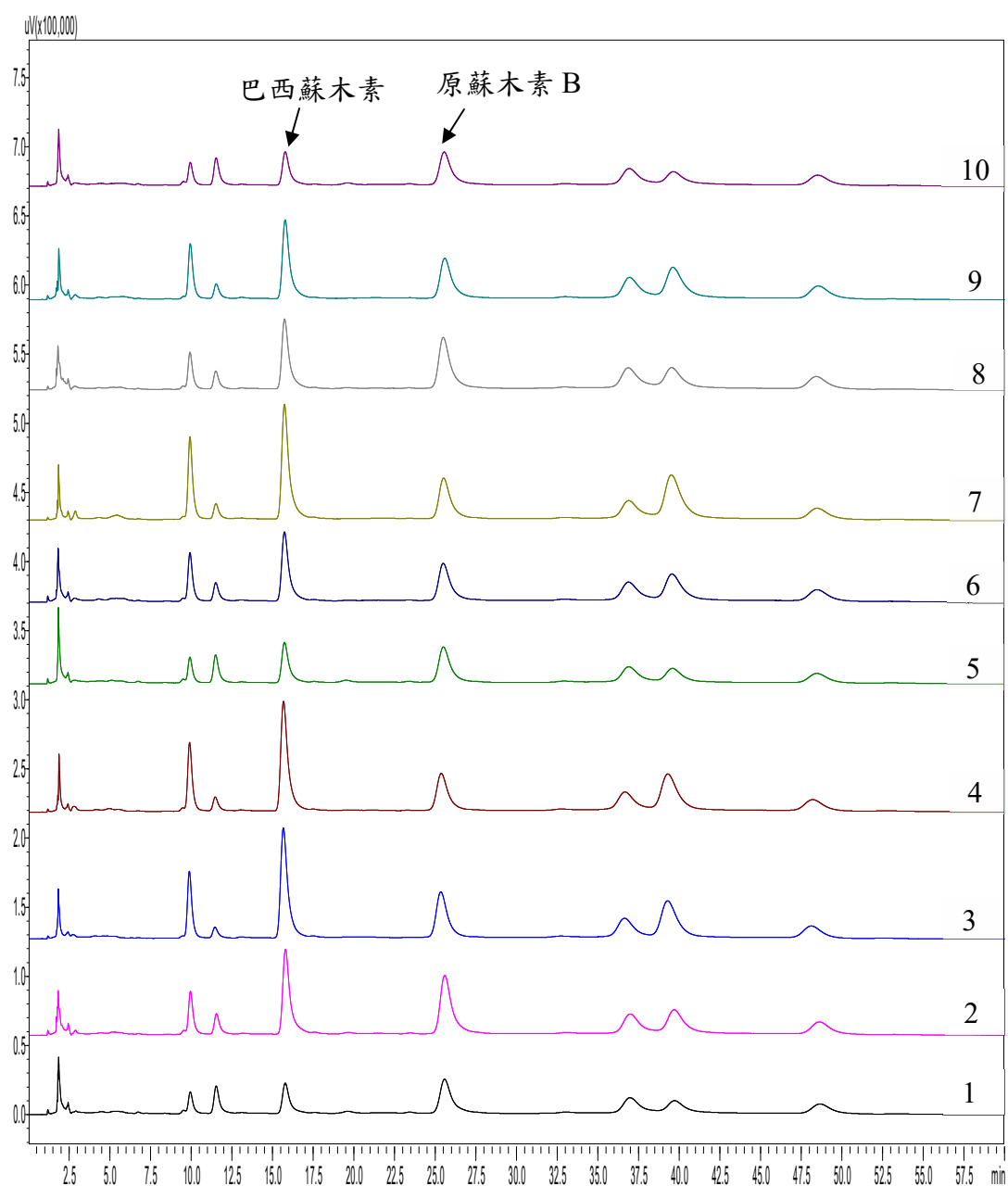
藥材編號 (No.)	巴西蘇木素 含量(%)	原蘇木素 B 含量(%)	巴西蘇木素與原蘇木素 B 總含量(%)
1 (NC)	1.009	0.485	1.494
2 (ND)	1.228	0.694	1.922
3 (NJ)	0.948	0.848	1.796
4 (NRA)	1.187	0.568	1.756
5 (CB)	0.758	0.729	1.487
6 (CH)	0.966	0.781	1.747
7 (SCA)	0.920	0.590	1.510
8 (SK2)	1.132	0.921	2.053
9 (SUA)	0.672	0.669	1.342
10 (SUC)	1.183	0.490	1.673
平均值±S.D.	1.001±0.187	0.678±0.147	1.679±0.221

(十一) 蘇木藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售蘇木藥材檢品溶液各 10 μ L 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：Agilent ZORBAX SB-C18 Column (250 $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 285 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：25 $^{\circ}$ C
5. 注入量：10 μ L
6. 移動相：

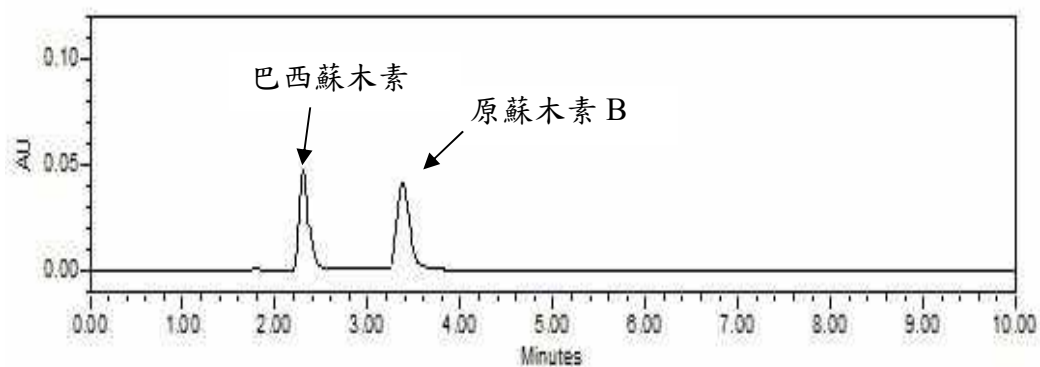
時間(min)	甲醇(%)	水(%)
0	20	80
60	20	80



圖九、10 批蘇木藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 對照標準品巴西蘇木素與原蘇木素 B 之 UPLC 層析

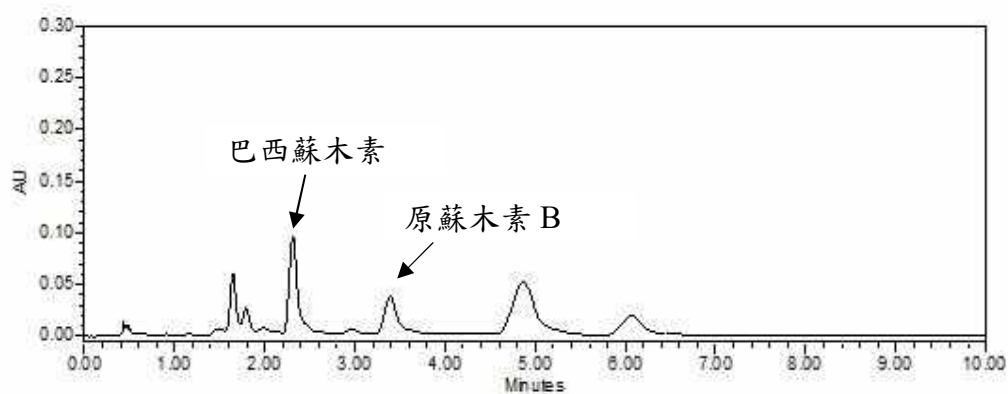
於滯留時間 2.30 及 3.37 分鐘處顯示巴西蘇木素及原蘇木素 B 對照標準品波峰(圖十)。



圖十、巴西蘇木素及原蘇木素 B 對照標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售蘇木藥材檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 2.30 及 3.38 分鐘處分別顯示蘇木藥材檢品中巴西蘇木素與原蘇木素 B 波峰(圖十一)。

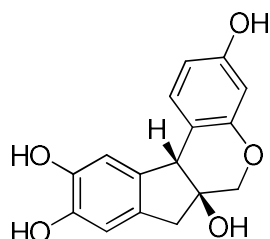


圖十一、市售蘇木藥材檢品之 UPLC 層析圖

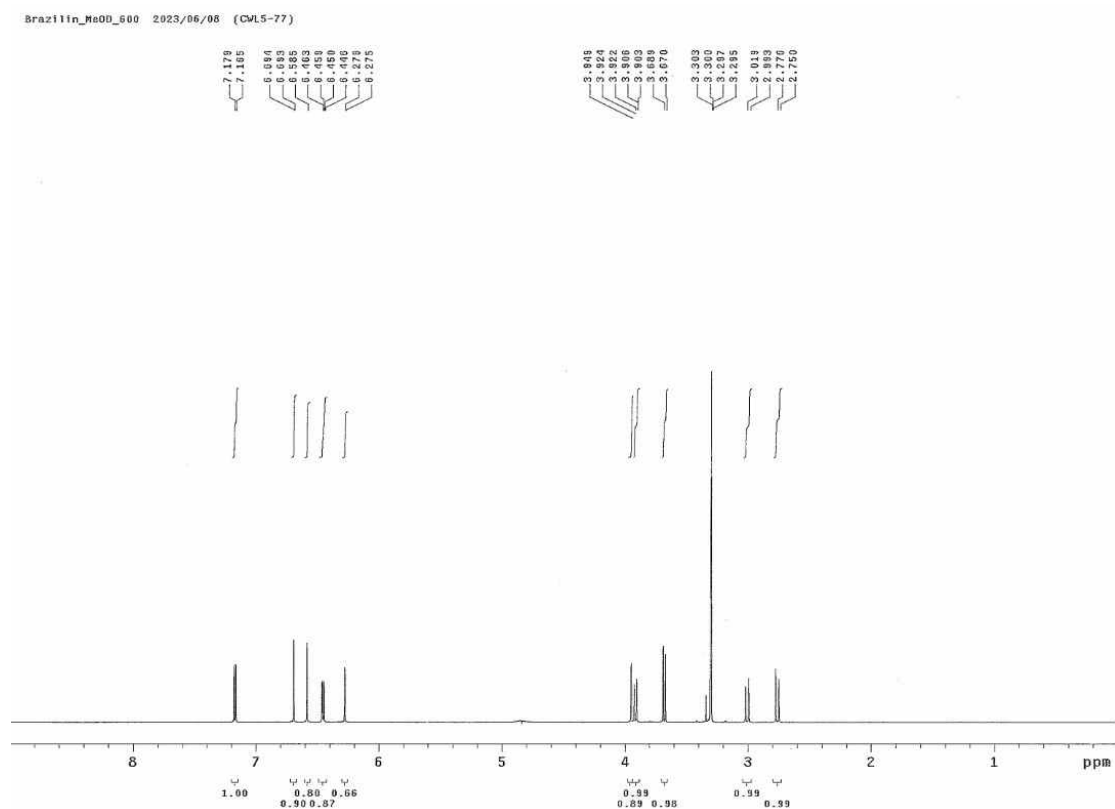
(十四) 巴西蘇木素的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{16}H_{14}O_5$ ；分子量：286.3；熔點：240 °C (dec.)；棕色粉末。

(十五) 巴西蘇木素的結構

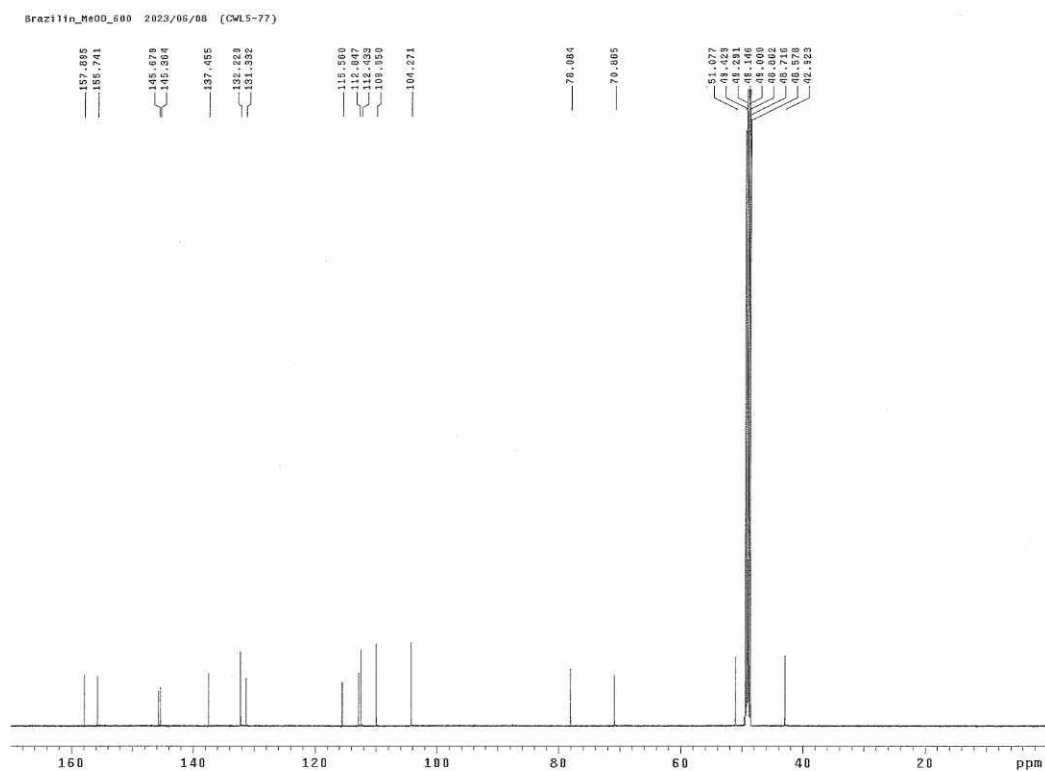


(十六) 巴西蘇木素的 1H NMR 圖譜



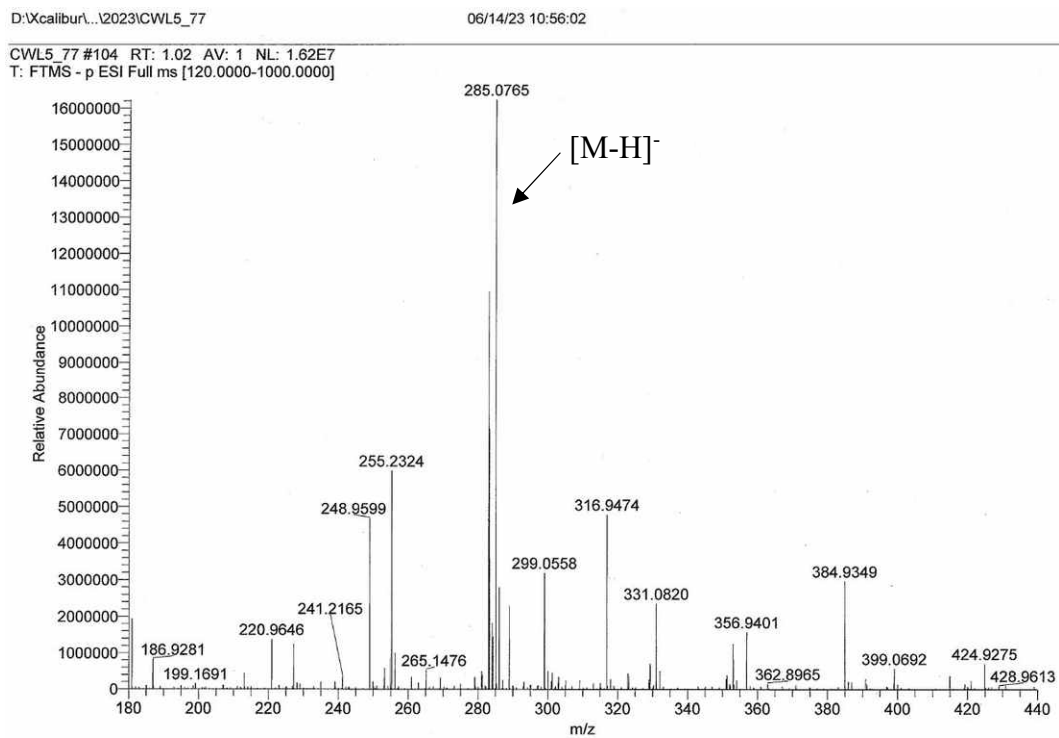
圖十二、巴西蘇木素的 1H NMR 圖譜(CD_3OD)

(十七) 巴西蘇木素的 ^{13}C NMR 圖譜



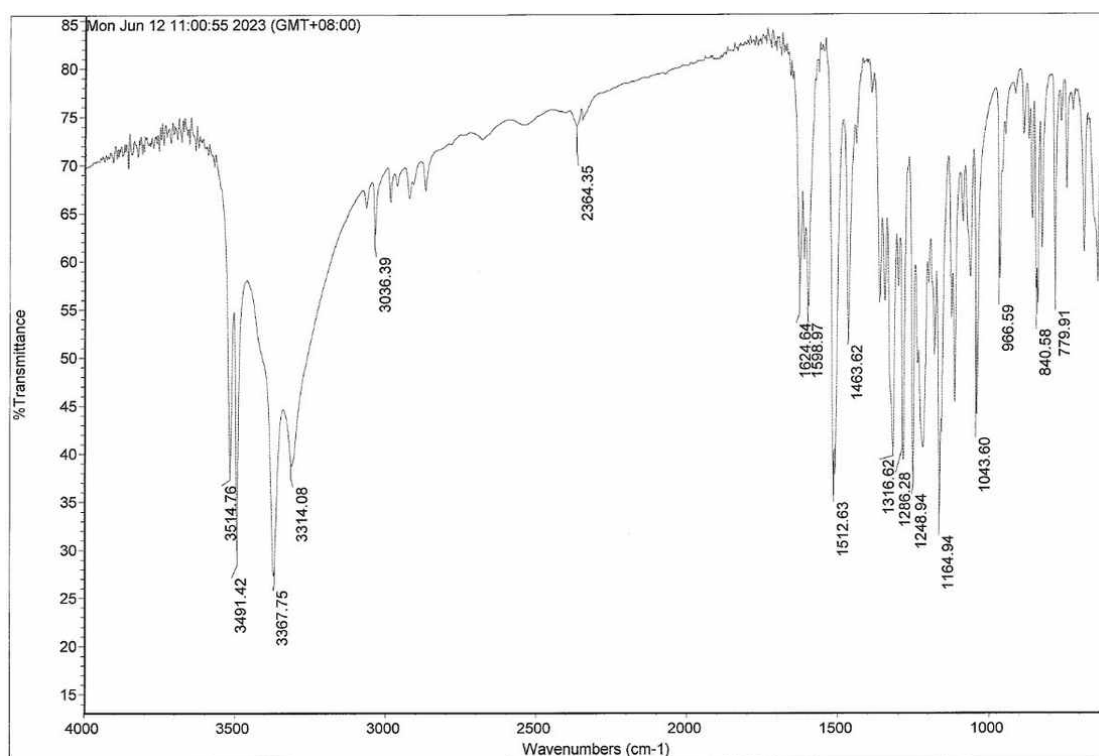
圖十三、巴西蘇木素的 ^{13}C NMR 圖譜(CD_3OD)

(十八) 巴西蘇木素的 ESI-MS 圖譜



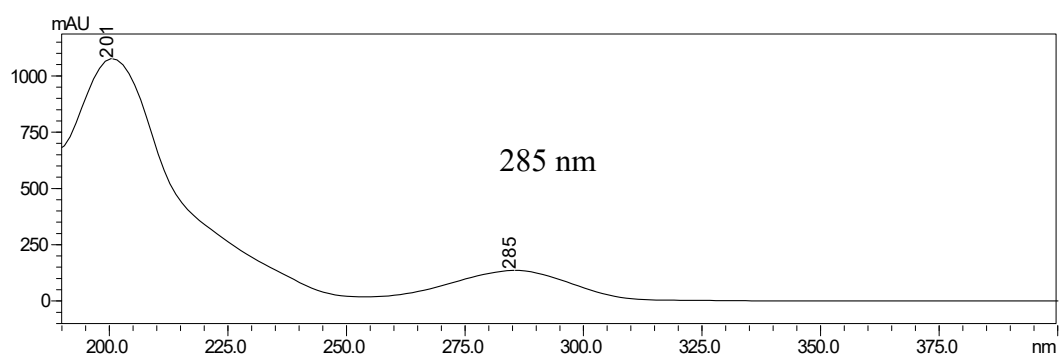
圖十四、巴西蘇木素的 ESI-MS 圖譜

(十九) 巴西蘇木素的 FTIR 圖譜



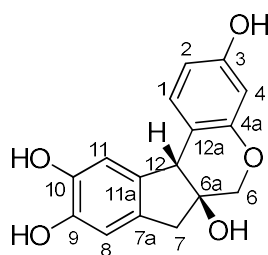
圖十五、巴西蘇木素的 FTIR 圖譜

(二十) 巴西蘇木素的 UV 圖譜



圖十六、巴西蘇木素的 UV 圖譜

(二十一) 巴西蘇木素的氫、碳化學位移



巴西蘇木素

表九、巴西蘇木素的氫、碳化學位移(CD₃OD)

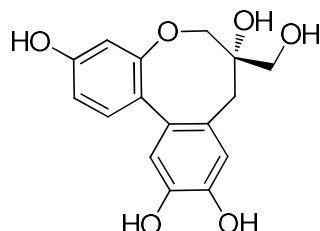
position	δ_H (600 MHz) ^a	δ_C (150 MHz)
1	7.17 (d, 8.4)	132.2
2	6.45 (dd, 8.4, 2.4)	110.0
3	-	157.9
4	6.28 (d, 2.4)	104.3
4a	-	155.7
6	3.68 (d, 11.4), 3.91 (d, 11.4)	70.9
6a	-	78.1
7	2.77 (d, 15.6), 3.01 (d, 15.6)	42.9
7a	-	131.3
8	6.59 (s)	112.8
9	-	145.7
10	-	145.4
11	6.69 (s)	112.4
11a	-	137.5
12	3.95 (s)	51.1
12a	-	115.6

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

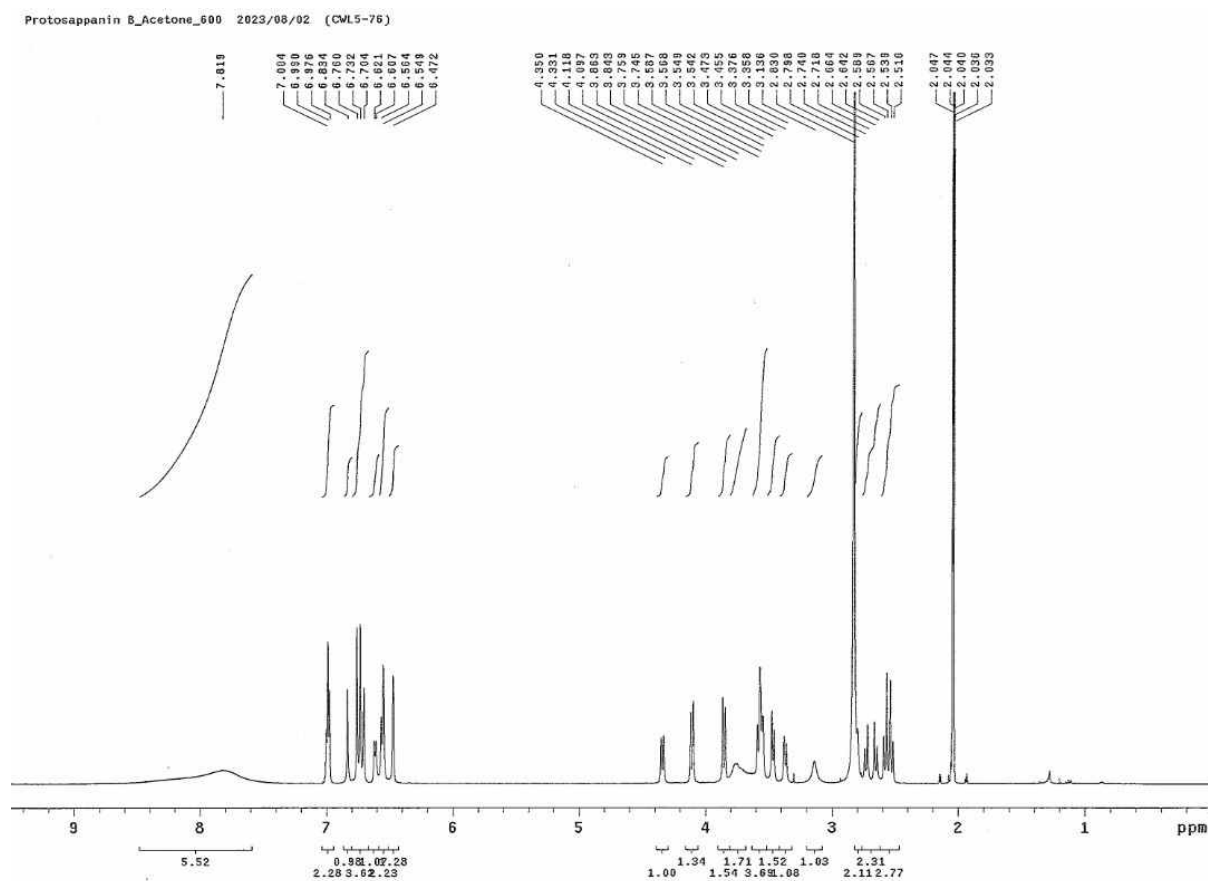
(二十二) 原蘇木素 B 的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{16}H_{16}O_6$ ；分子量：304.09；熔點：93–95 °C ；橙色粉末。

(二十三) 原蘇木素 B 的結構

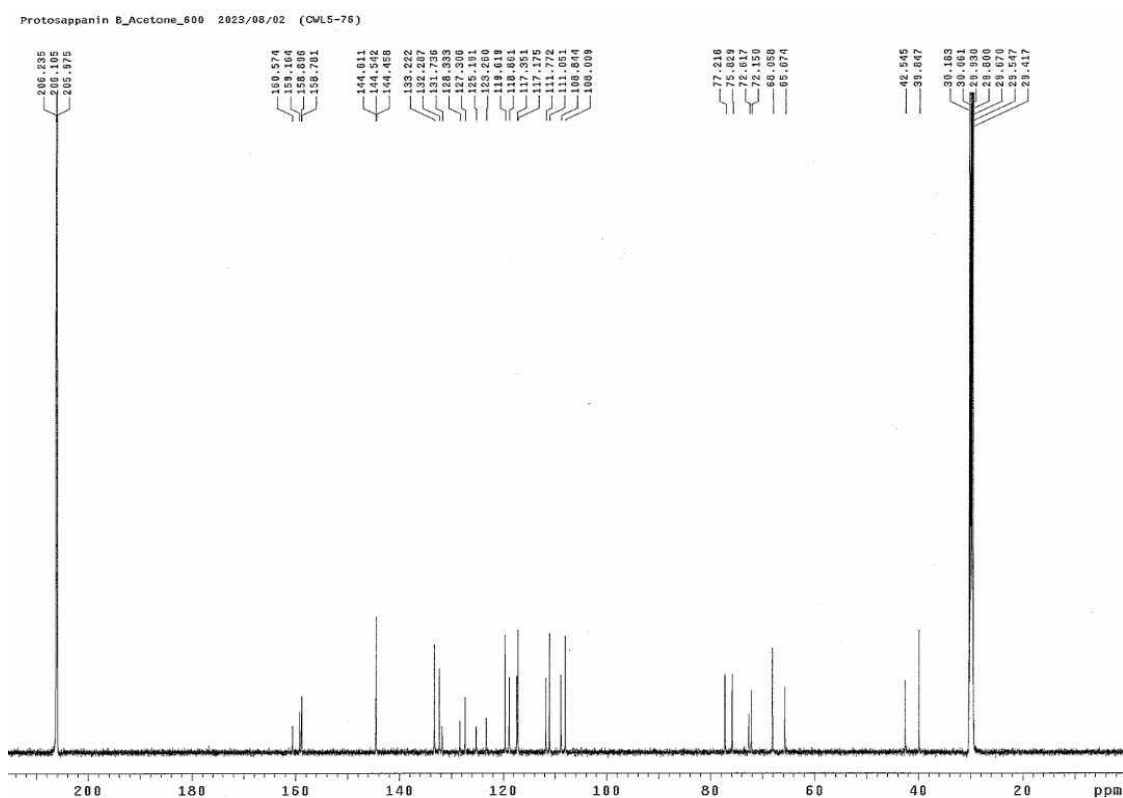


(二十四) 原蘇木素 B 的 1H NMR 圖譜



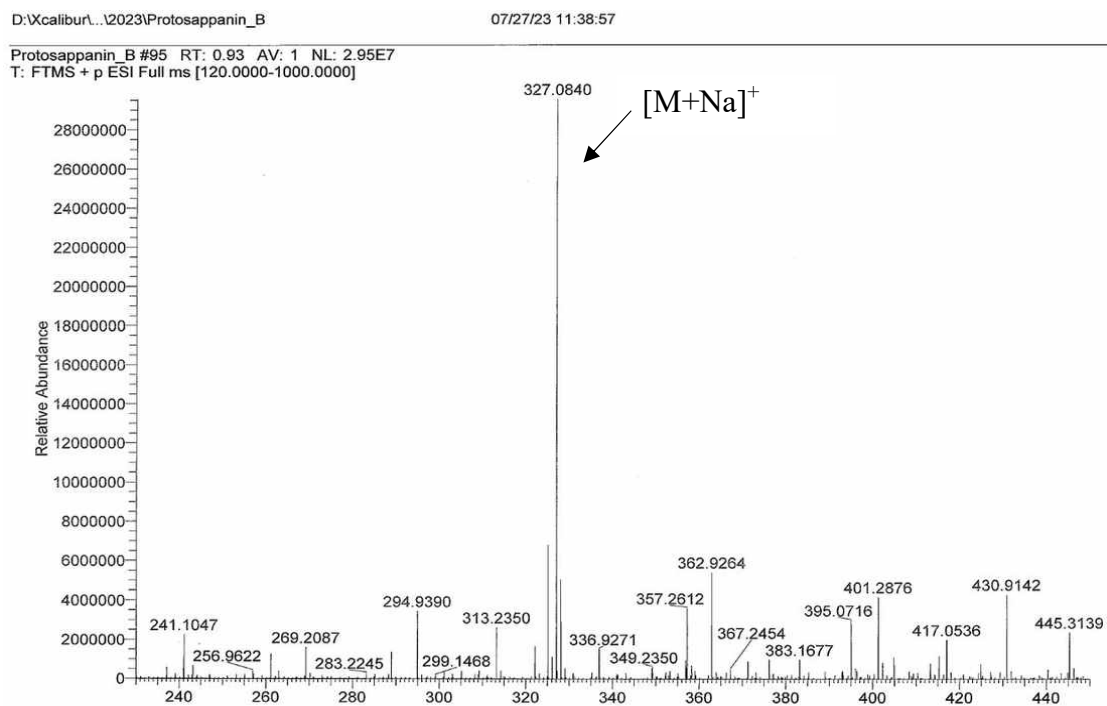
圖十七、原蘇木素 B 的 1H NMR 圖譜(Acetone- d_6)

(二十五) 原蘇木素 B 的 ^{13}C NMR 圖譜



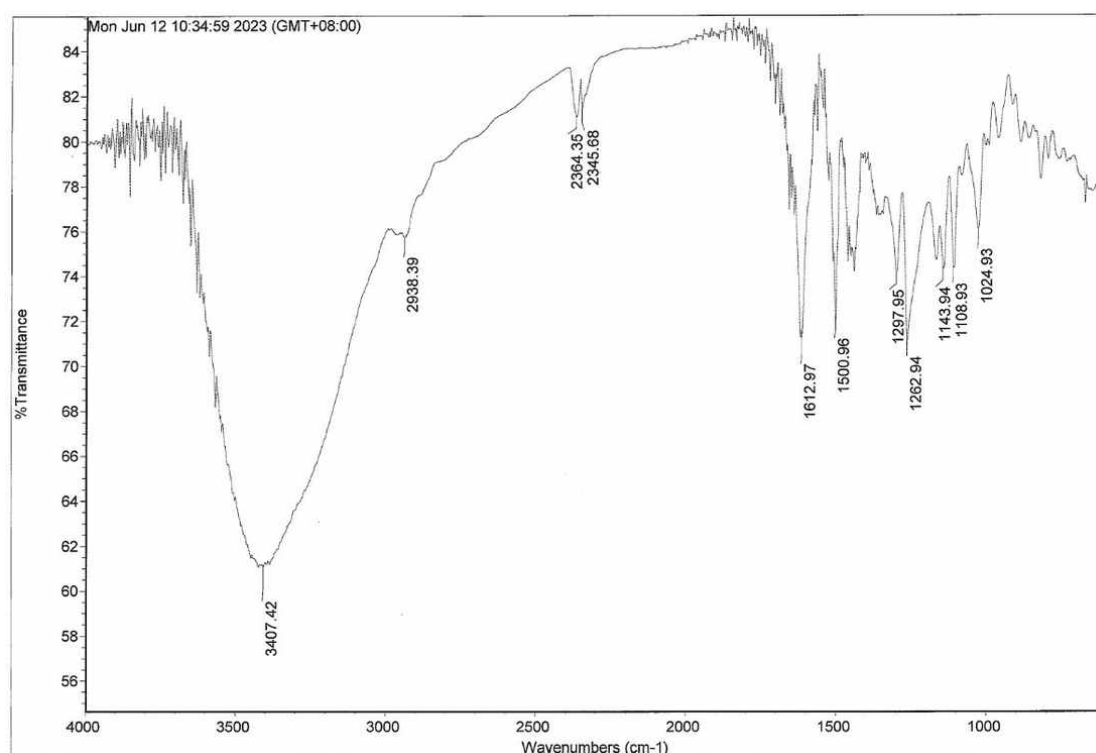
圖十八、原蘇木素 B 的 ^{13}C NMR 圖譜(Acetone- d_6)

(二十六) 原蘇木素 B 的 ESI-MS 圖譜



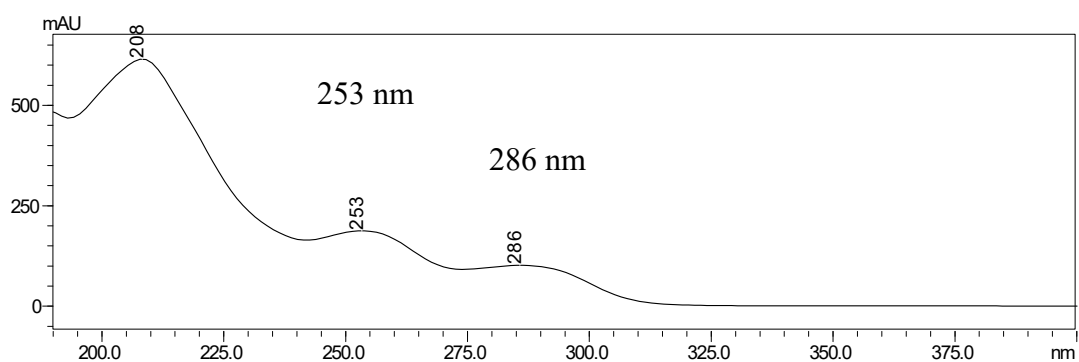
圖十九、原蘇木素 B 的 ESI-MS 圖譜

(二十七) 原蘇木素 B 的 FTIR 圖譜



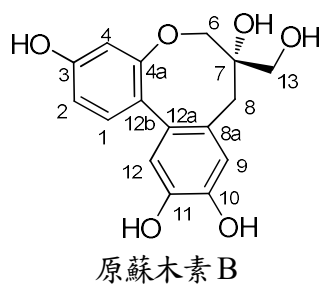
圖二十、原蘇木素 B 的 FTIR 圖譜

(二十八) 原蘇木素 B 的 UV 圖譜



圖二十一、原蘇木素 B 的 UV 圖譜

(二十九) 原蘇木素 B 的氫、碳化學位移



表十、原蘇木素 B 的氫、碳化學位移(Acetone- d_6)^a

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1	6.98 (d, 8.4)	133.2
	7.00 (d, 8.4)	132.3
2	6.56 (d, 8.4)	111.1
	6.61 (d, 8.4)	111.8
3	-	158.8, 158.9
4	6.47 (s)	108.0
	6.55 (s)	108.8
4a	-	159.2, 160.6
6	3.85 (d, 12.0), 4.11 (d, 12.0)	75.8
	3.54–3.59 (m), 4.34 (d, 11.4)	77.2
7	-	72.2, 72.6
8	2.53 (d, 13.2), 2.58 (13.2)	39.8
	2.65 (d, 13.2), 2.73 (d, 13.2)	42.5
8a	-	127.3, 128.3
9	6.73 (s)	119.6
	6.83 (s)	118.9
10	-	144.5, 144.6
11	-	144.5, 144.6
12	6.70 (s)	133.2
	6.76 (s)	132.3
12a	-	131.7, 132.2
12b	-	123.3, 125.2
13	3.37 (d, 9.0), 3.54–3.59 (m)	65.7
	3.46 (d, 9.0), 3.54–3.59 (m)	68.1

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

蘇木

生藥名：SAPPAN LIGNUM

英文名：Sappan Wood

基 原：本品為豆科 Leguminosae 植物蘇木 *Caesalpinia sappan* L.之乾燥心材。

一、方法

(一) 檢 品 溶 液 【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》《中華人民共和國藥典 2020》

——取本品粉末 1.0 g，加甲醇 10 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，取濾液，作為檢品溶液。

【萃取方法 2】(自行開發)✓

——取本品粉末 0.5 g，加甲醇 10 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，取濾液，作為檢品溶液。

(二) 對照標準品 溶 液 取巴西蘇木素(Brazilin)、原蘇木素 B(Protosappanin B)對照標準品，加甲醇製成每 1 mL 含 0.5 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】《臺灣中藥典第四版 2021》《中華人民共和國藥典 2020》

——二氯甲烷：丙酮：甲酸 (8：4：1)

【展開劑 2】(自行開發 1)

——正己烷：乙酸乙酯：甲酸 (5：5：1)

【展開劑 3】(自行開發 2)✓

——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (3：3：1)

(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 風乾後，放置 12 小時後，置於紫外光(254 nm)下檢視。

二、萃法選擇及濃度測試

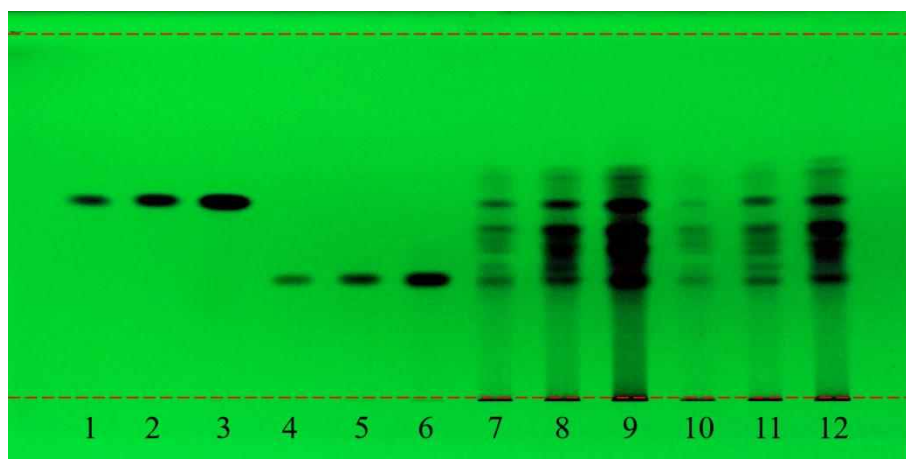
實驗日期：112/07/19

相對溼度(RH)：66%

溫度(RT)：25.7 °C

【展開劑 3】(自行開發 2)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (3：3：1)

——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



編號	名稱	點注量
1, 2, 3	巴西蘇木素(0.5 mg/mL)	1, 2, 5 μ L
4, 5, 6	原蘇木素 B (0.5 mg/mL)	1, 2, 5 μ L
7, 8, 9	檢品溶液 9【萃取方法 1】	1, 2, 5 μ L
10, 11, 12	檢品溶液 9【萃取方法 2】	1, 2, 5 μ L

建議萃法：兩種萃取方法，檢品溶液中皆可分離與檢出巴西蘇木素及原蘇木素 B，因濃度適中，故採用自行開發之【萃取方法 2】。

建議點注量：巴西蘇木素 2 μ L，原蘇木素 B 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：112/07/19

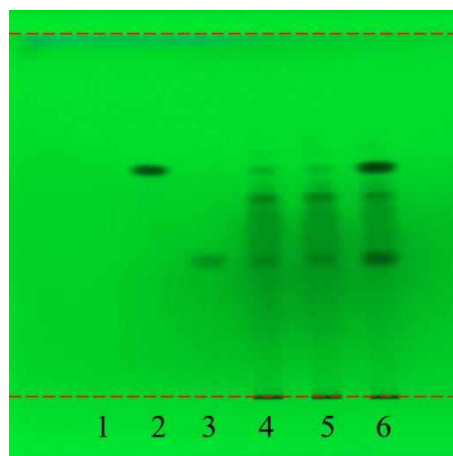
相對溼度(RH)：66%

溫度(RT)：25.7 °C

【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版 2021》《中華人民共和國藥典 2020》——二氯

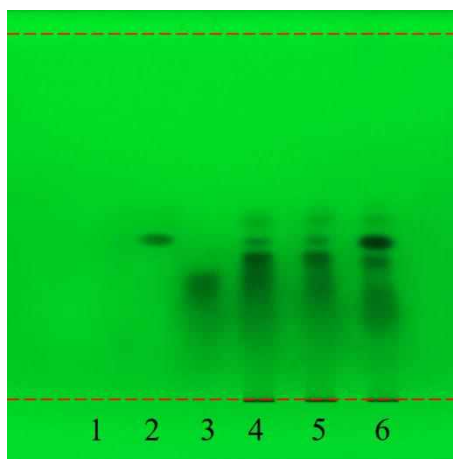
甲烷：丙酮：甲酸 (8：4：1)

【萃取方法 2】(自行開發)——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(巴西蘇木素 R_f 值 0.61，原蘇木素 B R_f 值 0.37)



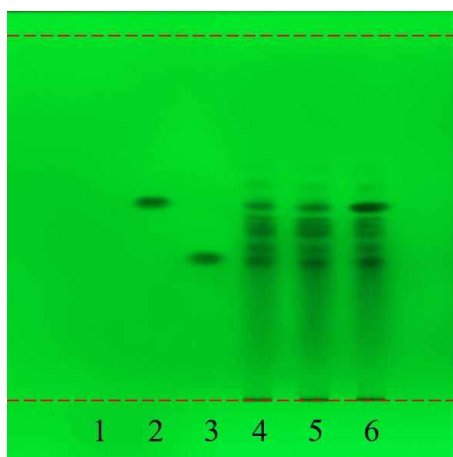
【展開劑 2】(自行開發 1)——正己烷：乙酸乙酯：甲酸 (5：5：1)

【萃取方法 2】(自行開發)——HPTLC HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(巴西蘇木素 R_f 值 0.42，原蘇木素 B R_f 值 0.31)



【展開劑 3】(自行開發 2)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (3：3：1) ✓

【萃取方法 2】(自行開發)——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(巴西蘇木素 R_f 值 0.55，原蘇木素 B R_f 值 0.35)



1：Blank

2：巴西蘇木素

3：原蘇木素 B

4，5：檢品溶液 9

6：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 2】方式，以自行開發 2 之【展開劑 3】展開，顯示巴西蘇木素及原蘇木素 B 的 R_f 值適中，分離佳且沒有托尾現象，沒有使用含氯溶媒，故採用【展開劑 3】。

四、觀察方式選擇

實驗日期：112/07/19

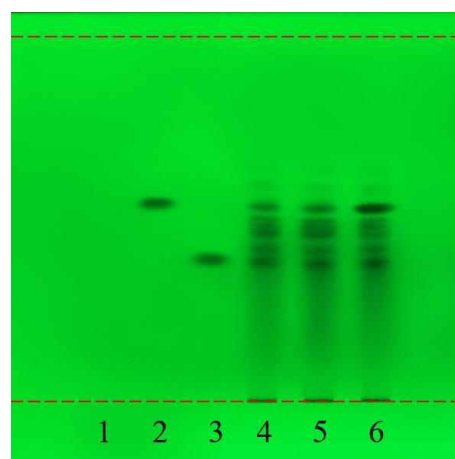
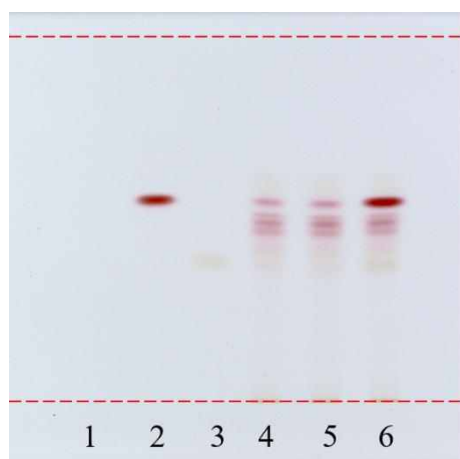
相對溼度(RH)：66%

溫度(RT)：25.7 °C

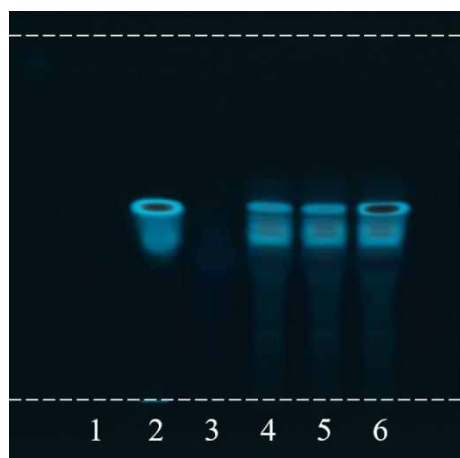
【展開劑 3】(自行開發 2)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (3：3：1)

【萃取方法 2】(自行開發)－HPTLC 可見光檢出

【萃取方法 2】(自行開發)－HPTLC 紫外光(254 nm)檢出 ✓

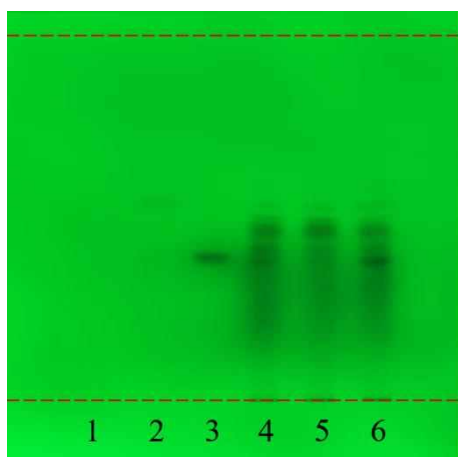


【萃取方法 2】(自行開發)－HPTLC 紫外光(365 nm)檢出

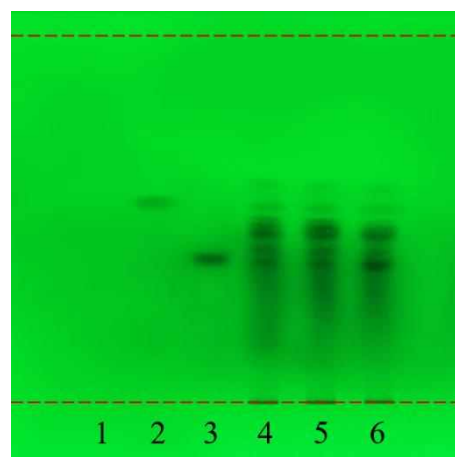


【展開劑 3】(自行開發 2)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (3：3：1)

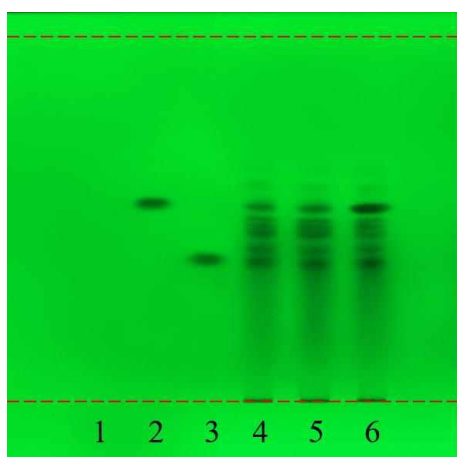
【萃取方法 2】(自行開發)—HPTLC 風
乾後紫外光(254 nm)檢出



【萃取方法 2】(自行開發)—HPTLC 風
乾後 2 小時紫外光(254 nm)檢出



【萃取方法 2】(自行開發)—HPTLC 風
乾後 12 小時紫外光(254 nm)檢出✓



- 1：Blank
- 2：巴西蘇木素
- 3：原蘇木素 B
- 4，5：檢品溶液 9
- 6：Spike

建議觀察方式：風乾後放置 12 小時，以紫外光(254 nm)檢視下，顯示巴西蘇木素及原蘇木素 B 有較明顯分離之條帶。

五、十批蘇木藥材樣品檢測

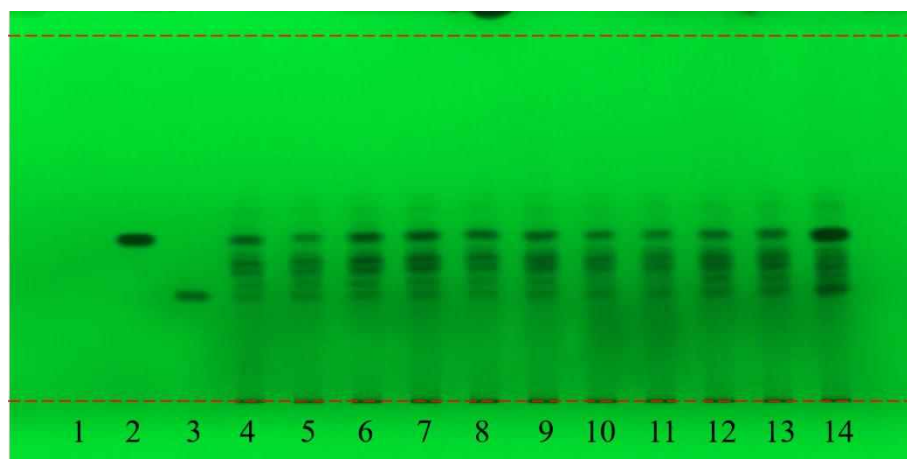
實驗日期：112/07/19

相對溼度(RH)：66%

溫度(RT)：25.7 °C

【展開劑 3】(自行開發 2)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (3：3：1)

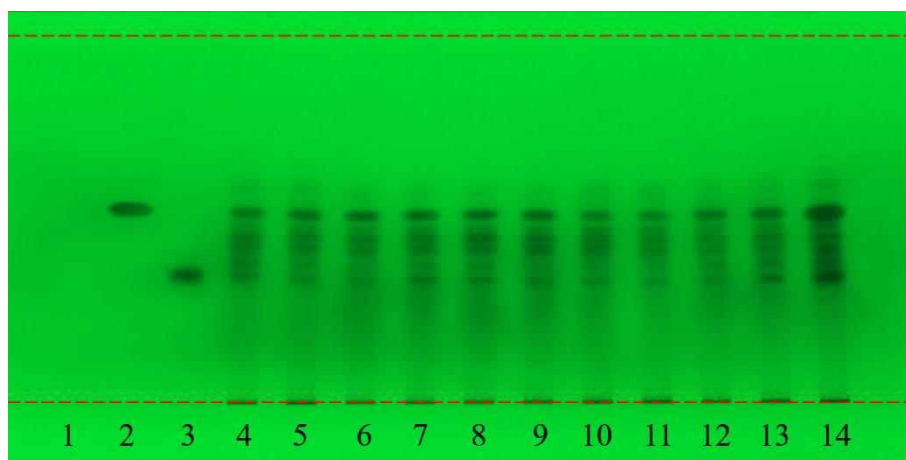
【萃取方法 2】(自行開發)–HPTLC 風乾後 12 小時，紫外光(254 nm)檢出



1	Blank	8，9	檢品溶液 3 (NJ)
2	巴西蘇木素(0.5 mg/mL)	10，11	檢品溶液 4 (NRA)
3	原蘇木素 B (0.5 mg/mL)	12，13	檢品溶液 5 (CB)
4，5	檢品溶液 1 (NC)	14	Spike (檢品溶液 9)
6，7	檢品溶液 2 (ND)		

【展開劑 3】(自行開發 2)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (3：3：1)

【萃取方法 2】(自行開發)—HPTLC 風乾後 12 小時，紫外光(254 nm)檢出



1	Blank	8, 9	檢品溶液 8 (SK2)
2	巴西蘇木素(0.5 mg/mL)	10, 11	檢品溶液 9 (SUA)
3	原蘇木素 B (0.5 mg/mL)	12, 13	檢品溶液 10 (SUC)
4, 5	檢品溶液 6 (CH)	14	Spike (檢品溶液 9)
6, 7	檢品溶液 7 (SCA)		

結論與建議：以【萃取方法 2】方式及自行開發之【展開劑 3】分離與檢出蘇木素及原蘇木素 B 較佳，風乾後放置 12 小時，以紫外光(254 nm)檢視較佳。

蘇木飲片(SAPPAN LIGNUM)

一、材料

購置於臺灣各地中藥店蘇木飲片共 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 Agilent ZORBAX SB-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、Sample 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

甲醇(HPLC grade)購置於 Duksan Pure Chemicals Co., Ltd。

(二) 對照標準品

巴西蘇木素(Brazilin)、原蘇木素 B(Protosappanin B)購置於普思生物科技公司, 純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取溶媒評估

蘇木飲片最佳萃取溶媒同蘇木藥材。

(二) 最佳萃取次數評估

蘇木飲片最佳萃取次數同蘇木藥材。

(三) 對照標準品溶液

1. 準確稱取對照標準品巴西蘇木素 4.0 mg, 加 10 mL 的 50% 甲醇製成每 1 mL 含巴西蘇木素 400 μg 的對照標準品儲備溶液, 並以 50% 甲醇稀釋至巴西蘇木素 100 μg/mL 製成對照標準品溶液。
2. 準確稱取對照標準品原蘇木素 B 4.0 mg, 加 10 mL 的 50% 甲醇製成每 1 mL 含原蘇木素 B 400 μg 的對照標準品儲備溶液, 並以 50% 甲醇稀釋至原蘇木素 B 100 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 No.20 篩網)約 1.0 g，置 100mL 圓底瓶中，準確加入 50% 甲醇 50 mL，加熱迴流 30 分鐘，冷卻後以 No.1 濾紙過濾，取濾液移入 50 mL 之容量瓶中，加 50% 甲醇至刻度。搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.45 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，用標準曲線計算溶液中巴西蘇木素及原蘇木素 B 的含量，即得。

(六) 檢量線

1. 準確吸取巴西蘇木素對照標準品儲備液適量(400 μ g/mL)，以 50% 甲醇稀釋成含巴西蘇木素分別為 400、200、100、50、25、10 μ g/mL 的對照標準品溶液。以上溶液各取 10 μ L 分別注入 HPLC 進行定量分析，利用對照標準品之波峰面積(y 軸)和對照標準品之濃度(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 。
2. 準確吸取原蘇木素 B 對照標準品儲備液適量(400 μ g/mL)，以 50% 甲醇稀釋成含原蘇木素 B 分別為 400、200、100、50、25、10 μ g/mL 的對照標準品溶液。以上溶液各取 10 μ L 分別注入 HPLC 進行定量分析，利用對照標準品之波峰面積(y 軸)和對照標準品之濃度(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

1. 以巴西蘇木素為 100 μ g/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以原蘇木素 B 的波峰面積為指標，求出相對標準差。
2. 以原蘇木素 B 為 100 μ g/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以巴西蘇木素的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性：取同一批市售蘇木飲片粉末，依蘇木飲片檢品溶液製備方法平行製備 5 份蘇木飲片檢品溶液，進樣測定，以巴西蘇木素及原蘇木素 B 的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售蘇木飲片粉末，依蘇木飲片檢品溶液製備方法製備蘇木飲片檢品溶液，分別在 0、2、4、8、24 小時進樣測定，以巴西蘇木素及原蘇木素 B 的含量為指標，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 Quantification, 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

1. 取已知巴西蘇木素含量的蘇木飲片粉末 5 份，每份準確稱取約 0.5 g，分別加入巴西蘇木素 3.5 mg，並按檢品溶液製備方法操作測定。
2. 取已知原蘇木素 B 含量的蘇木飲片粉末 5 份，每份準確稱取約 0.5 g，分別加入原蘇木素 B 3.0 mg，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：Agilent ZORBAX SB-C18 Column (250 × 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 285 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：10 μ L
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	水(%)
0	20	80
60	20	80

(十二) 臺灣市售蘇木飲片含量測定

取 10 批市售蘇木飲片及 10 批市售蘇木飲片依檢品溶液製備方法製備檢品溶液，取各 10 μ L 連續 3 針注入 HPLC，所得平均波峰面積依附錄 I 公式計算樣品巴西蘇木素及原蘇木素 B 的百分比含量。

(十三) 蘇木檢品之 UPLC 分析條件

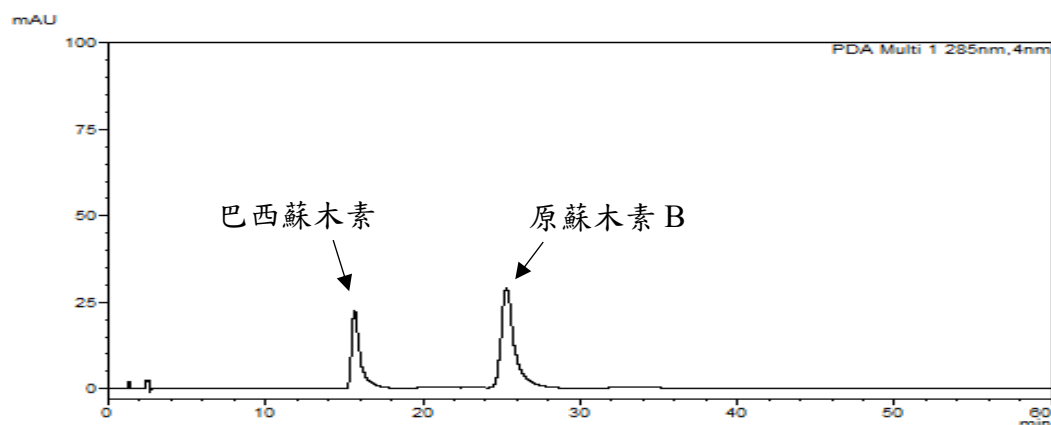
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μ m)
2. 檢測波長：UV 285 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μ L
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	水(%)
0	20	80
10	20	80

五、結果

(一) 對照標準品巴西蘇木素與原蘇木素 B 之 HPLC 層析

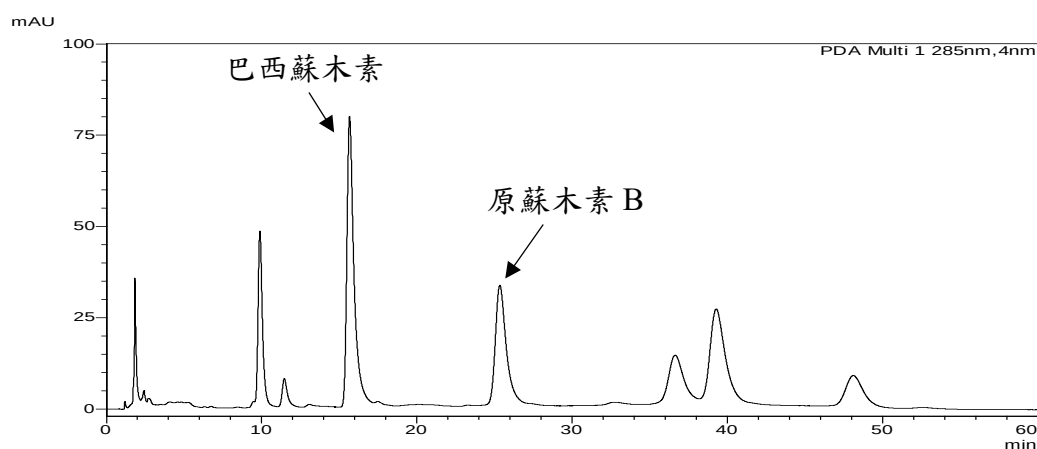
於滯留時間 15.6 及 25.3 分鐘處顯示巴西蘇木素與原蘇木素 B 對照標準品波峰(圖一)。



圖一、巴西蘇木素與原蘇木素 B 對照標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售蘇木飲片檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 15.6 與 25.3 分鐘處顯示蘇木飲片檢品中巴西蘇木素與原蘇木素 B 波峰(圖二)。巴西蘇木素分離率(R)為 8.7，拖尾因子(T)為 1.1；原蘇木素 B 分離率(R) 3.5，拖尾因子(T)為 1.2，均在系統適用性要求內。



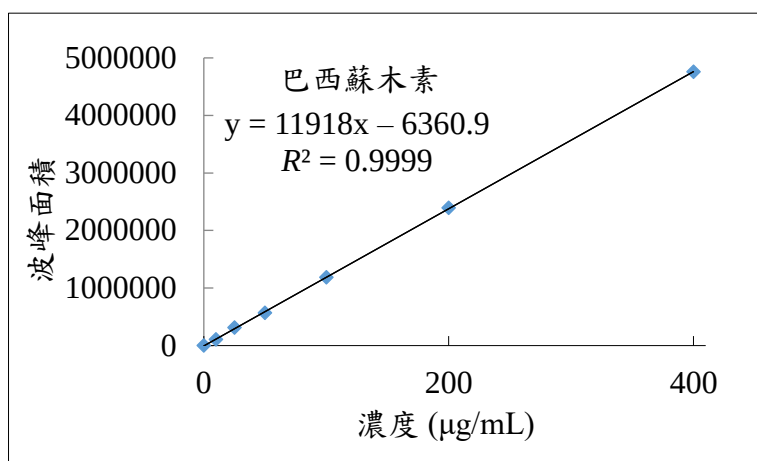
圖二、市售蘇木飲片檢品之 HPLC 層析圖

表一、巴西蘇木素與原蘇木素 B 之分離率與拖尾因子

	巴西蘇木素	原蘇木素 B
分離率	8.7	3.5
拖尾因子	1.1	1.2

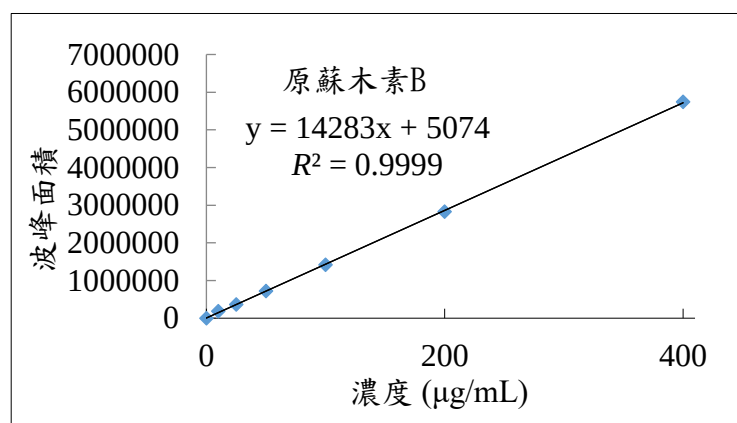
(三) 對照標準品巴西蘇木素與原蘇木素 B 檢量線

1. 經不同濃度巴西蘇木素(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 $y = 11918x - 6360.9$ ， $R^2 = 0.9999$ ，顯示濃度在 10–400 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、巴西蘇木素之檢量線圖

2. 經不同濃度原蘇木素 B (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 $y = 14283x + 5074$ ， $R^2 = 0.9999$ ，顯示濃度在 10–400 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖四)。



圖四、原蘇木素 B 之檢量線圖

表四、巴西蘇木素與原蘇木素 B 之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
巴西蘇木素	10–400	$y = 11918x - 6360.9$	0.9999
原蘇木素 B	10–400	$y = 14283x + 5074$	0.9999

(六) 精密度試驗

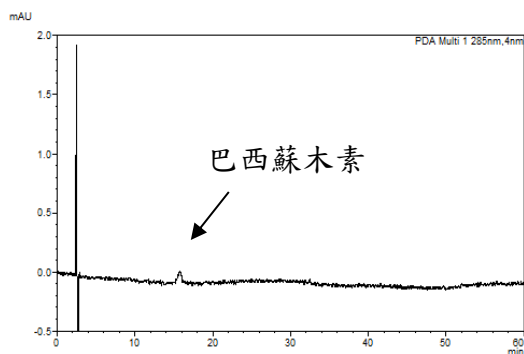
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，巴西蘇木素與原蘇木素 B 精密度之相對標準差分別為 0.40% 與 0.07%，均在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

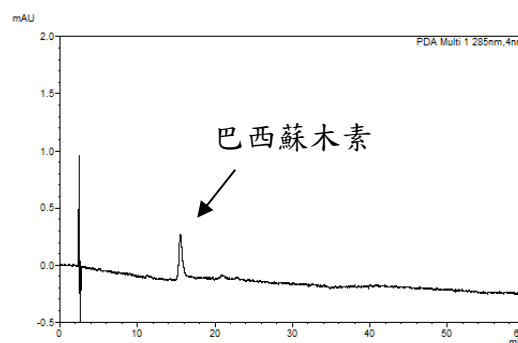
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，巴西蘇木素與原蘇木素 B 重複性之相對標準差分別為 1.12% 及 1.10%，均在系統適用性要求內。巴西蘇木素與原蘇木素 B 在 24 小時內穩定，穩定性相對標準差分別為 0.85% 及 0.48%，變化差異小，若所有樣品分析都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

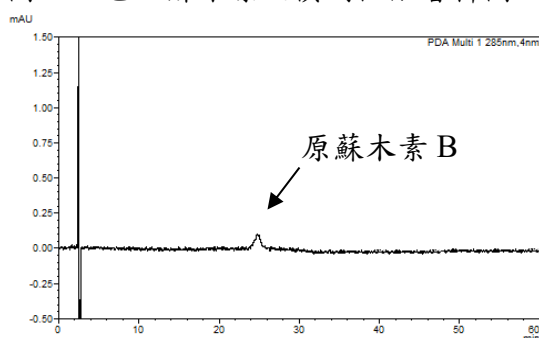
巴西蘇木素偵測極限為 0.50 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)，定量極限為 2.50 $\mu\text{g/mL}$ (圖六)。原蘇木素 B 偵測極限為 0.50 $\mu\text{g/mL}$ (圖七)，定量極限為 2.50 $\mu\text{g/mL}$ (圖八)。



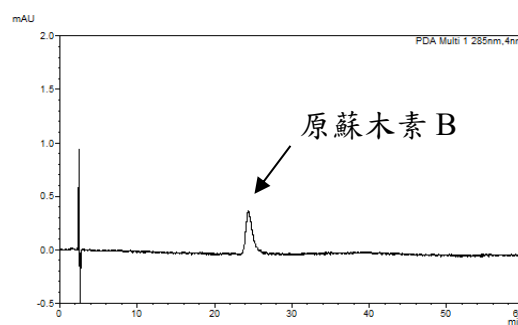
圖五、巴西蘇木素之偵測極限層析圖



圖六、巴西蘇木素之定量極限層析圖



圖七、原蘇木素 B 之偵測極限層析圖



圖八、原蘇木素 B 之定量極限層析圖

表三、各項檢驗分析

檢測項目	巴西蘇木素		原蘇木素 B	
	濃度	R.S.D. (%)	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	100 µg/mL	0.07	100 µg/mL	0.40
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.5)	1.12	檢品溶液(No.5)	1.10
穩定性 (n=5)	檢品溶液(No.5)	0.85	檢品溶液(No.5)	0.48
偵測極限 (n=1)	0.50 µg/mL	-	0.50 µg/mL	-
定量極限 (n=1)	2.50 µg/mL	-	2.50 µg/mL	-

(九) 添加回收率試驗

巴西蘇木素平均添加回收率為 92.4%，相對標準偏差為 0.77% (表四)。

原蘇木素 B 平均添加回收率為 94.3%，相對標準偏差為 1.09% (表五)。

表四、巴西蘇木素添加回收率

編號	飲片稱重 (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	0.5004	3.4120	3.5	6.6518	92.57	92.4	0.77
2	0.5003	3.4113	3.5	6.6126	91.47		
3	0.5005	3.4127	3.5	6.6647	92.91		
4	0.5004	3.4120	3.5	6.6237	91.76		
5	0.5005	3.4127	3.5	6.6699	93.06		

表五、原蘇木素 B 添加回收率

編號	飲片稱重 (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	0.5004	2.2837	3.0	4.4643	94.81	94.3	1.09
2	0.5003	2.2832	3.0	4.4424	93.88		
3	0.5005	2.2841	3.0	4.4524	94.27		
4	0.5004	2.2837	3.0	4.4214	92.94		
5	0.5005	2.2841	3.0	4.4854	95.71		

(十) 臺灣市售蘇木飲片含量測定

10 批蘇木飲片之含量測定結果(乾燥品)如表七所示，巴西蘇木素的含量為 0.666–1.173%，原蘇木素 B 的含量為 0.417–0.924%。巴西蘇木素與原蘇木素 B 的總含量為 1.153–2.058%，建議蘇木飲片指標成分巴西蘇木素與原蘇木素 B 的總含量不得少於 1.0%。理論板數按巴西蘇木素波峰計算應不低於 4000 (實際值為 6600)，按原蘇木素 B 波峰計算應不低於 4000 (實際值為 6720)。

表七、臺灣市售蘇木飲片檢品之巴西蘇木素與原蘇木素 B 的含量

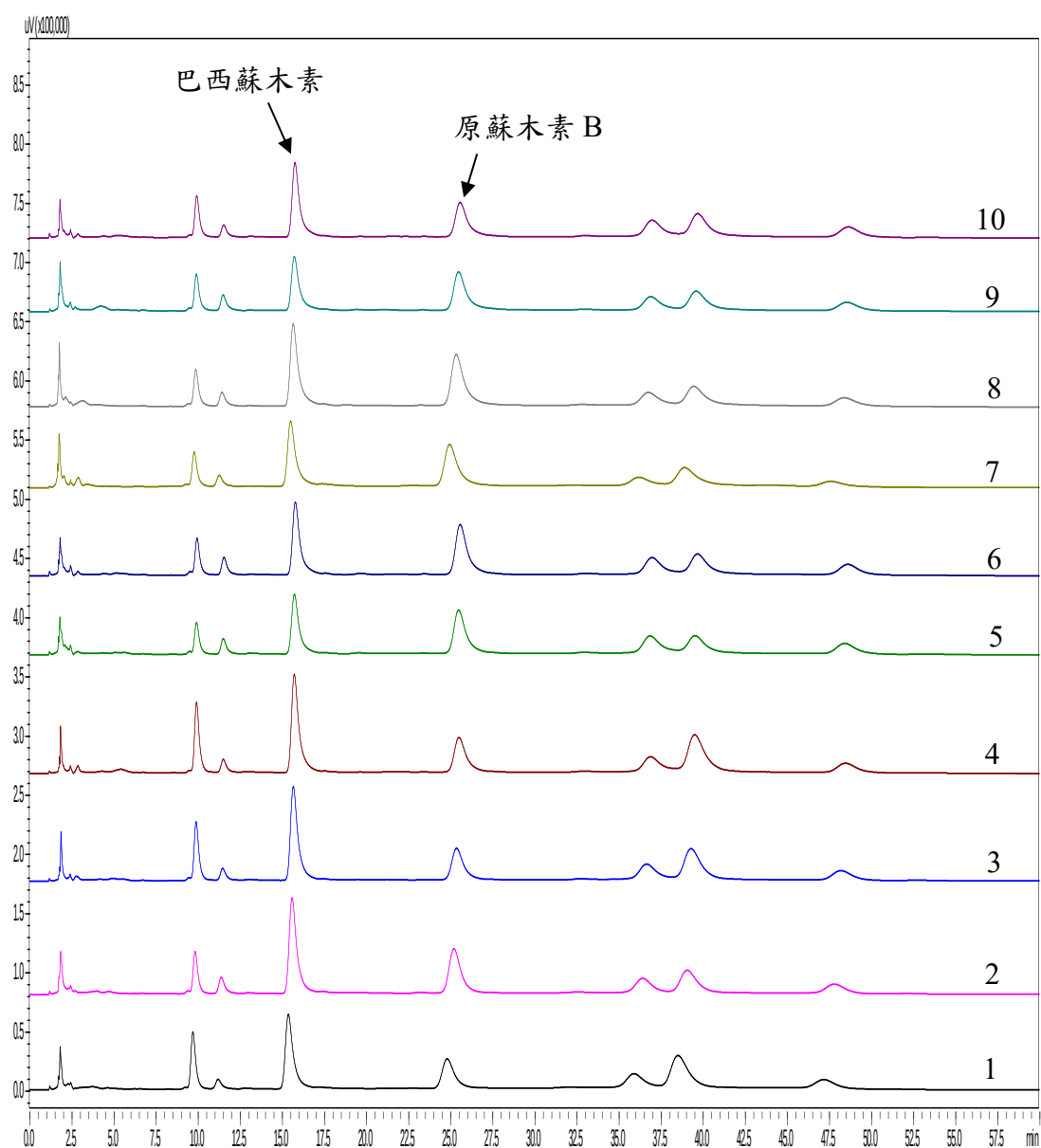
飲片編號 (No.)	巴西蘇木素 含量(%)	原蘇木素 B 含量(%)	巴西蘇木素與原蘇木素 B 總含量(%)
1 (NH)	0.666	0.486	1.153
2 (NJ)	0.888	0.417	1.305
3 (NRA)	1.173	0.592	1.765
4 (NRB)	0.760	0.506	1.266
5 (CA)	0.831	0.574	1.405
6 (CA2)	0.752	0.601	1.353
7 (CE)	1.135	0.924	2.058
8 (SA)	0.983	0.590	1.573
9 (SCB)	0.920	0.590	1.510
10 (SK1)	0.823	0.528	1.352
平均值±S.D.	0.893±0.164	0.581±0.134	1.474±0.268

(十一) 蘇木飲片之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售蘇木飲片檢品溶液各 10 μ L 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：Agilent ZORBAX SB-C18 Column (250 $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 285 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：25 $^{\circ}$ C
5. 注入量：10 μ L
6. 移動相：

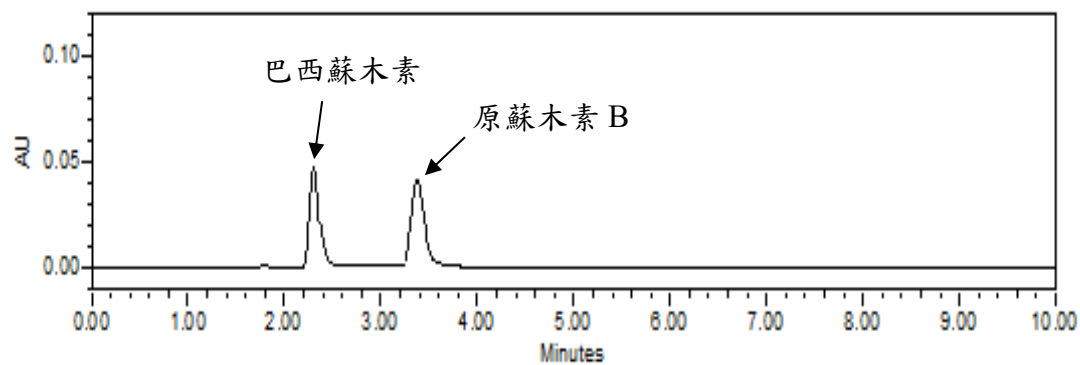
時間(min)	甲醇(%)	水(%)
0	20	80
60	20	80



圖九、10 批蘇木飲片之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 對照標準品巴西蘇木素與原蘇木素 B 之 UPLC 層析

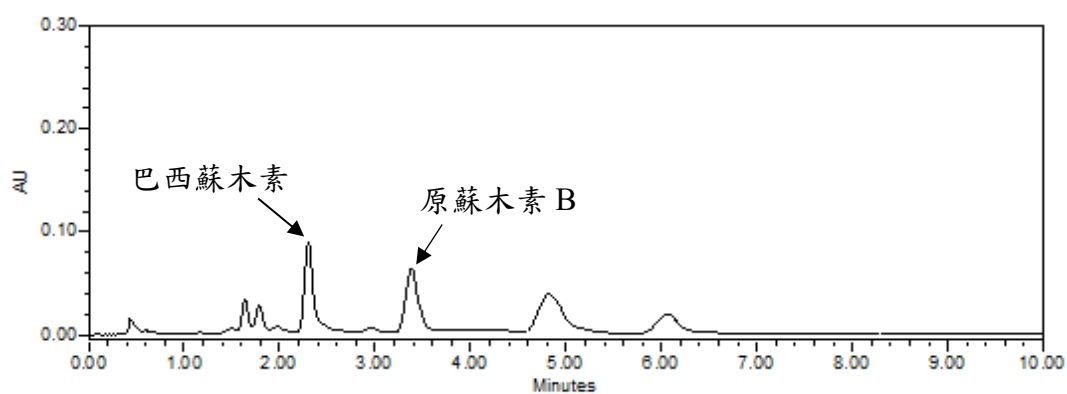
於滯留時間 2.30 及 3.37 分鐘處顯示巴西蘇木素與原蘇木素 B 對照標準品波峰(圖十)。



圖十、巴西蘇木素與原蘇木素 B 對照標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售蘇木飲片檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 2.30、3.38 分鐘處分別顯示蘇木飲片檢品中巴西蘇木素與原蘇木素 B 波峰(圖十一)。



圖十一、市售蘇木飲片檢品之 UPLC 層析圖

蘇木(飲片)

生藥名：SAPPAN LIGNUM

英文名：Sappan Wood

基 原：本品為豆科 Leguminosae 植物蘇木 *Caesalpinia sappan* L.之乾燥心材。

一、方法

(一) 檢品溶液 【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》《中華人民共和國藥典 2020》

——取本品粉末 1.0 g，加甲醇 10 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，取濾液，作為檢品溶液。

【萃取方法 2】(自行開發)✓

——取本品粉末 0.5 g，加甲醇 10 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，取濾液，作為檢品溶液。

(二) 對照標準品 溶 液 取巴西蘇木素(Brazilin)、原蘇木素 B(Protosappanin B)對照標準品，加甲醇製成每 1 mL 含 0.5 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】《臺灣中藥典第四版 2021》《中華人民共和國藥典 2020》

——二氯甲烷：丙酮：甲酸 (8：4：1)

【展開劑 2】(自行開發 1)

——正己烷：乙酸乙酯：甲酸 (5：5：1)

【展開劑 3】(自行開發 2)✓

——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (3：3：1)

(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 風乾後，放置 12 小時後，置於紫外光(254 nm)下檢視。

二、萃法選擇及濃度測試

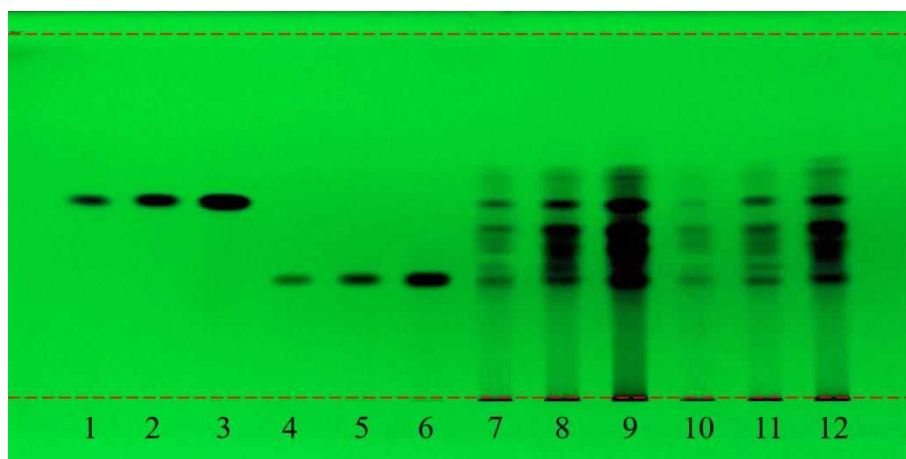
實驗日期：112/07/19

相對溼度(RH)：66%

溫度(RT)：25.7 °C

【展開劑 3】(自行開發 2)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (3：3：1)

——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



編號	名稱	點注量
1，2，3	巴西蘇木素(0.5 mg/mL)	1，2，5 μ L
4，5，6	原蘇木素 B (0.5 mg/mL)	1，2，5 μ L
7，8，9	檢品溶液 9【萃取方法 1】	1，2，5 μ L
10，11，12	檢品溶液 9【萃取方法 2】	1，2，5 μ L

建議萃法：兩種萃取方法，檢品溶液中皆可分離與檢出巴西蘇木素及原蘇木素 B，因濃度適中，故採用自行開發之【萃取方法 2】。

建議點注量：巴西蘇木素 2 μ L，原蘇木素 B 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：112/07/19

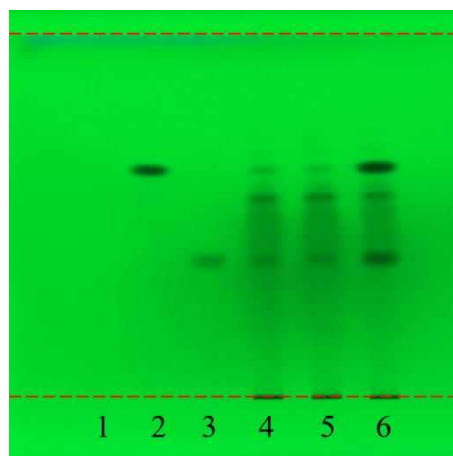
相對溼度(RH)：66%

溫度(RT)：25.7 °C

【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版 2021》《中華人民共和國藥典 2020》——二氯

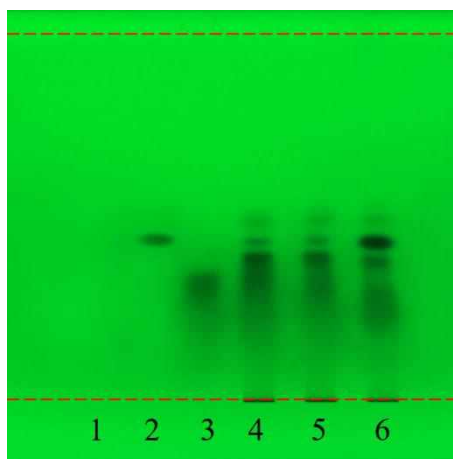
甲烷：丙酮：甲酸 (8：4：1)

【萃取方法 2】(自行開發)——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(巴西蘇木素 R_f 值 0.61，原蘇木素 B R_f 值 0.37)



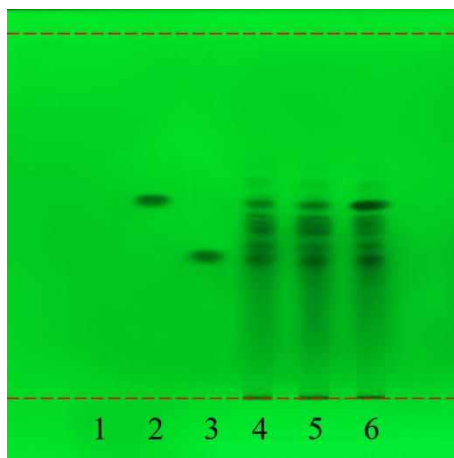
【展開劑 2】(自行開發 1)——正己烷：乙酸乙酯：甲酸 (5：5：1)

【萃取方法 2】(自行開發)——HPTLC HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(巴西蘇木素 R_f 值 0.42，原蘇木素 B R_f 值 0.31)



【展開劑 3】(自行開發 2)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (3：3：1) ✓

【萃取方法 2】(自行開發)——HPTLC HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(巴西蘇木素 R_f 值 0.55，原蘇木素 B R_f 值 0.35)



1：Blank

2：巴西蘇木素

3：原蘇木素 B

4，5：檢品溶液 9

6：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 2】方式，以自行開發 2 之【展開劑 3】展開，顯示巴西蘇木素及原蘇木素 B 的 R_f 值適中，分離佳且沒有托尾現象，沒有使用含氯溶媒，故採用【展開劑 3】。

四、觀察方式選擇

實驗日期：112/07/19

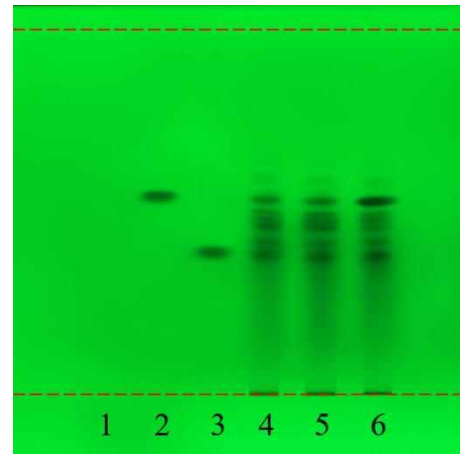
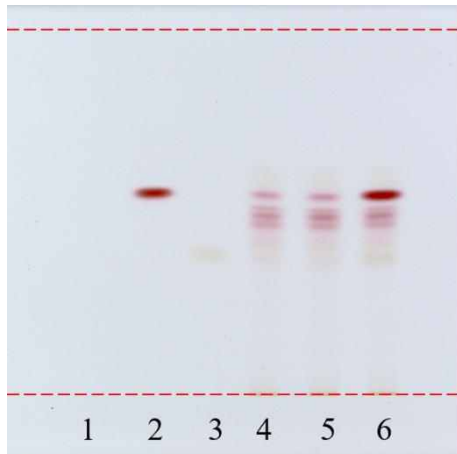
相對溼度(RH)：66%

溫度(RT)：25.7 °C

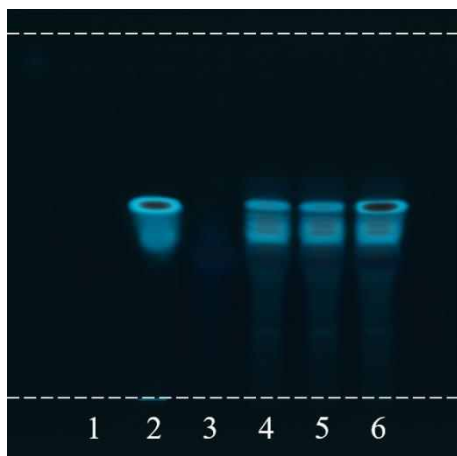
【展開劑 3】(自行開發 2)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (3：3：1)

【萃取方法 2】(自行開發)－HPTLC 可見光檢出

【萃取方法 2】(自行開發)－HPTLC 紫外光(254 nm)檢出 ✓

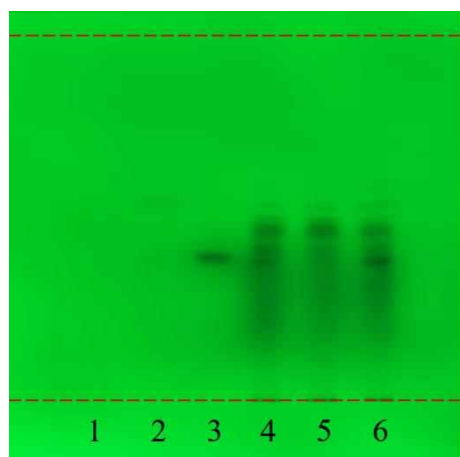


【萃取方法 2】(自行開發)－HPTLC 紫外光(365 nm)檢出

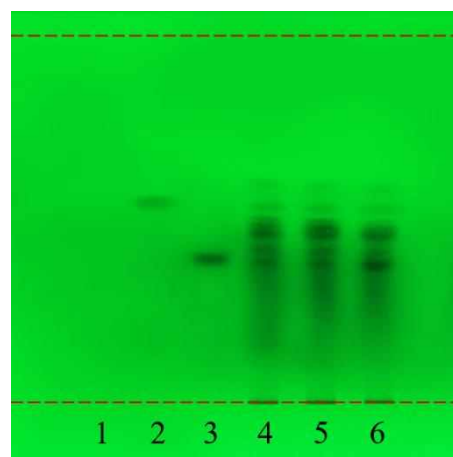


【展開劑 3】(自行開發 2)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (3：3：1)

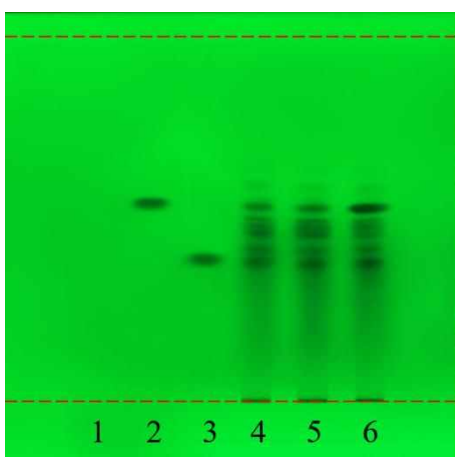
【萃取方法 2】(自行開發)－HPTLC 風
乾後紫外光(254 nm)檢出



【萃取方法 2】(自行開發)－HPTLC 風
乾後 2 小時紫外光(254 nm)檢出



【萃取方法 2】(自行開發)－HPTLC 風
乾後 12 小時紫外光(254 nm)檢出✓



- 1：Blank
- 2：巴西蘇木素
- 3：原蘇木素 B
- 4，5：檢品溶液 9
- 6：Spike

建議觀察方式：風乾後放置 12 小時，以紫外光(254 nm)檢視下，顯示巴西蘇木素及原蘇木素 B 有較明顯分離之條帶。

五、十批蘇木飲片樣品檢測

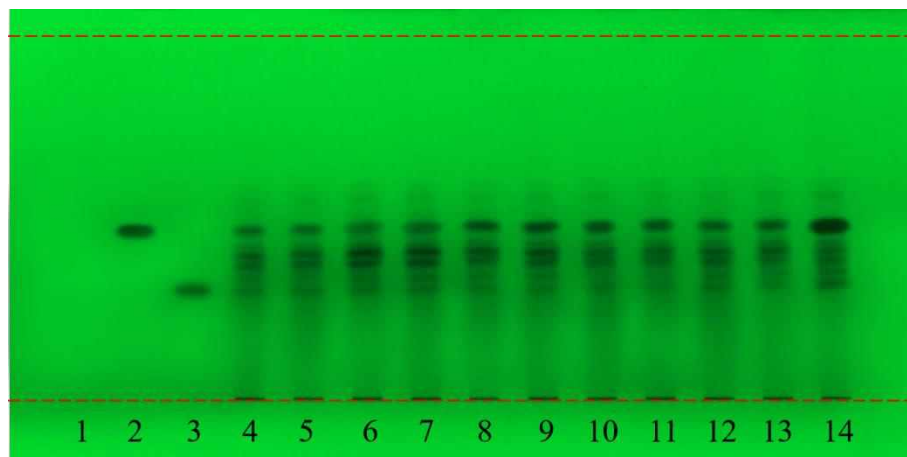
實驗日期：112/07/19

相對溼度(RH)：66%

溫度(RT)：25.7 °C

【展開劑 3】(自行開發 2)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (3：3：1)

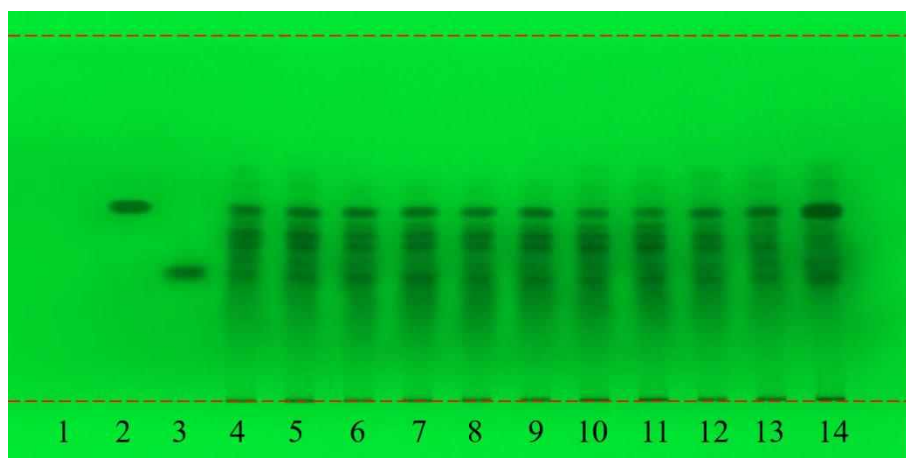
【萃取方法 2】(自行開發)–HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



1	Blank	8，9	檢品溶液 3 (NH)
2	巴西蘇木素(0.5 mg/mL)	10，11	檢品溶液 4 (NRB)
3	原蘇木素 B (0.5 mg/mL)	12，13	檢品溶液 5 (CA)
4，5	檢品溶液 1 (NE)	14	Spike (檢品溶液 9)
6，7	檢品溶液 2 (NF)		

【展開劑 3】(自行開發 2)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (3：3：1)

【萃取方法 2】(自行開發)—HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



1	Blank	8, 9	檢品溶液 8 (SA)
2	巴西蘇木素(0.5 mg/mL)	10, 11	檢品溶液 9 (SCB)
3	原蘇木素 B (0.5 mg/mL)	12, 13	檢品溶液 10 (SK1)
4, 5	檢品溶液 6 (CA2)	14	Spike (檢品溶液 9)
6, 7	檢品溶液 7 (CE)		

結論與建議：以【萃取方法 2】方式及自行開發之【展開劑 3】分離與檢出蘇木素及原蘇木素 B 較佳，風乾後放置 12 小時，以紫外光(254 nm)檢視較佳。