

中藥成分對照標準品之標定- Sennoside A

徐雅慧 陳思慧 王承中 劉宜祝 施養志

食品藥物管理署研究檢驗組

摘 要

中草藥品質評估試驗中，用於檢驗分析比對之中藥成分對照標準品，因缺乏公認之標準，其品質參差不齊。本計畫依前所建立之「中藥成分對照標準品實驗室間共同比對試驗機制」模式，除TFDA外，邀請其他8個實驗室共同參與試驗，進行Sennoside A (番瀉苷A) 檢品原料之各項理化學共同試驗。彙整9個實驗室之試驗結果，UV光譜最大吸收波長 $\lambda_{\max}$ = 269.8, 333.5nm，比吸光度 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ = 218.4, 164.8。IR光譜吸收位置在3421, 1710, 1636及1072 cm^{-1} 具有Sennoside A特有之吸收。高效液相層析檢測結果，9個參與實驗室分別檢出1-13個微量不純物，其不純物之含量均 $\leq 0.56\%$ ，總不純物之含量亦均 $\leq 1.50\%$ 。以上數據顯示，本批Sennoside A原料，其品質可做為Sennoside A對照標準品。本計畫除供應具有公認品質基礎之中藥成分對照標準品外，亦建立未來供應中藥成分對照標準品之品管模式，使中藥成分對照標準品品質邁向國際水準。

關鍵詞：Sennoside A、中藥成分對照標準品、實驗室間共同試驗

前 言

中藥材化學成分複雜，不易分析，製成製劑後，其他成分之干擾更增加分析之困難。且近年來，檢驗儀器之快速發展，有關中藥之檢驗技術與分析方法不斷地研究與改進，為提升中藥化學成分檢驗方法之精準性，中藥成分對照標準品之應用確有其必要性。此外，行政院衛生署102年公布「臺灣中藥典」，已收載多種中藥成分之含量測定項目，然所需比對之中藥成分對照標準品鮮有相關品質規範，且民間機構製備之市售品，因未依照國際標準予以標定，其品質參差不齊，難以做為檢驗分析之比對標準。因此，為確保中藥品質，並提升中藥檢驗分析方法之可靠性，建立中藥成分對照標準品之品質規範，提供優質之中藥成分對照標準品為當務之急。

相較於各國在中藥成分對照標準品之製造與管理，日本應屬較有制度且管理較嚴謹之國家，

且已具40餘年經驗，其相關業務均由日本藥局方編輯委員會之專家委員會邀集討論。有關其管理模式，首先由委員會評估相關試驗方法後，購買精製過之原料，並選定包括官方與業界等4-5個實驗室，進行共同試驗。各實驗室分析所得結果經彙整後，再由專家委員會評估，最後由財團法人日本公定書協會等認證機關之核准、頒佈。另以美國藥典為例，在取得標準品原料後，先經過美國FDA、USP及標準品原料提供者等三個實驗室共同試驗比對後，再由USP複審相關數據與評估，才核准分裝與販售。

為使中藥成分對照標準品之品質符合公認之標準，前曾於94年度規劃「建立中藥成分對照標準品實驗室間共同比對試驗機制」計畫，該計畫中邀請學術界及業者等多位學者專家組成諮詢委員會，討論計畫進行之相關方式與試驗方法，並以甘草酸為試驗對象，以建立試驗機制。同時，除本實驗室外，亦邀請研發單位及製藥界之實驗

室共同參與進行。每一個參與實驗室利用各實驗室現有之儀器，參照共同之試驗方法操作後，提供數據，彙整報告，以瞭解各實驗室間比對試驗結果之差異。依報告結果顯示，前述試驗機制應屬正確可行。

本計畫依前所建立之「中藥成分對照標準品實驗室間共同比對試驗機制」⁽¹⁾為基礎，自94年起已陸續完成Glycyrrhizic acid (甘草酸)、Paeoniflorin (芍藥苷)、Baicalin (黃芩苷)、Berberine chloride (氯化小檗)及Puerarin (葛根素)對照標準品之實驗室間比對試驗⁽²⁻⁶⁾，並完成此5項中藥成分對照標準品之供應。本年度選定Sennoside A(番瀉苷A)進行標定，除依照已評估之試驗方法⁽⁷⁾進行檢品原料品質檢測，亦由另外8個實驗室進行實驗室間共同試驗，彙整試驗結果後，再由專家委員會評估Sennoside A檢品原料品質。期望經由本計畫，供應具公認標準之中藥成分對照標準品，亦建立可行之品管模式，使未來供應之中藥成分對照標準品品質符合國際水準。

材料與方法

一、材料

(一)原料：Sennoside A (ChromaDex公司；批號：00019159-101)

(二)標準品：日本藥局方Sennoside A對照標準品(批號：SEA0201、SEA0405)

(三)試藥及溶媒

Sodium acetate trihydrate (Riedel-de Haën)、Tetra-n-heptylammonium bromide (東京化工TCI)、Sulindac (Sigma)、DMSO-d₆ (Sigma)、碳酸氫鈉(Merck)、冰醋酸(Merck)、甲醇(Merck)、乙腈(Merck)(均使用試藥特級或特級相當品)

(四)濾膜：0.45 μm (Millipore)

二、儀器設備

Sennoside A檢品原料實驗室間共同試驗之各參與實驗室分別以A, B, C, D, E, F, G, H及I表示，使用之相關儀器設備，如下：

(一)精密天平

1. Mettler Toledo, AX 205, Switzerland (A、C、F)
2. Mettler Toledo, XP 56, Switzerland (A)
3. Mettler Toledo, XS-204, Switzerland (B)
4. Sartorius, BP 211D, Germany (D)
5. AND, GR 202, Japan (E)
6. DENVER, TB 215D, Germany (G)
7. OHAUS, PA214C, United States (H)
8. Mettler Toledo, AL204, Switzerland (I)

(二)高效液相層析儀(HPLC)

1. Agilent, 1100 series, United States (A、F、G、H、I)
2. Hitachi, L7000, Japan (B)
3. Waters, 2695 separations Module, United States (C)
4. Hitachi, L2000, Japan (D)
5. Waters, Waters 600, United States (E)

(三)紫外光譜儀(UV)

1. Agilent, CARY 300 Bio, United States (A)
2. Hitachi, U 1900, Japan (B)
3. SHIMADZU, UV 160, Japan (C)
4. Agilent, HP 8453, United States (F)
5. Hitachi, U2800, Japan (G)
6. Thermo, BioMATE 3S, United States (H)
7. SHIMADZU, UV-1700, Japan (I)

(四)紅外光譜儀(IR)

1. Jasco, FTIR-480, Japan (A)
2. Perkin Elmer, Spectrum RX1, United States (C)
3. Perkin Elmer, Spectrum I, United States (F)
4. Perkin Elmer, Spectrum One, United States (G)
5. Thermo, Nicolet MAGNA IR550, United States (H)
6. Bruker, FT-IR Vector 22, United States (I)

(五)水分測定裝置

1. KEM, Karl Fischer Coulometer KEM MKC-520, Japan (A)
2. Metrohm, Karl Fischer Coulometer Metrohm

701KF, United States (F、H)

3. Metrohm, Karl Fischer Coulometer Metrohm

831KF, United States (G)

(六) 熔點測定裝置

1. Buchi, Buchi 540, Switzerland (A、D)

2. Stuart, SMP3, United Kingdom (C)

3. Buchi, Buchi 535, Switzerland (F)

4. Barnstead, MeL-TemPII, United States (G)

5. TA, DSC Q10, United States (H)

6. Mettler Toledo, DSC-822, Switzerland (I)

(七) 核磁共振儀(NMR)

1. Bruker, AVIII-400, United States (C)

2. Varian, Unity Inova-500, United States (G)

3. Bruker, Avance-500, United States (委託台灣大學貴重儀器中心檢測)

(八) 元素分析儀(EA)

HERAEUS, VarioEL-III, Germany (委託台灣大學貴重儀器中心檢測)

三、方法

(一) 紫外光吸光度測定

取預經室溫減壓(5 mmHg以下)乾燥12小時之檢品原料約2 mg，精確稱定，置50 mL容量瓶中，加1%碳酸氫鈉溶液定容，供作檢品溶液，按中華藥典第六版⁽⁸⁾分光吸光度測定法-紫外光及可視光吸光度測定法測定之，記錄波長200-500 nm之吸光度。並於270、334 nm附近呈現最大吸收處，計算其比吸光度($E_{1cm}^{1\%}$)。

(二) 高效液相層析測定法^(7,9)

1. 移動相溶液配製

(1) 1 M醋酸-醋酸鈉緩衝溶液(pH 5.0)：取醋酸鈉13.6 g，加水溶解並定容至100 mL。此液用稀醋酸(冰醋酸6 g加水溶成100 mL之溶液)調節其pH值至5.0。

(2) 溶液A：取1 M醋酸-醋酸鈉緩衝溶液(pH 5.0)加水稀釋(1→10)。

(3) 取溴化-四庚基銨(tetra-n-heptylammonium bromide) 2.45 g，溶於溶液A與乙腈之混合液(17：8)中，使成

1000 mL即得，再以濾膜過濾，濾液經脫氣處理，供作移動相溶液。

2. 內部標準品溶液配製

取Sulindac約50 mg，精確稱定，置50 mL容量瓶中，加移動相溶解並定容，供作內部標準品溶液(1000 µg/mL)。

3. 檢品溶液配製

取檢品原料約5 mg，精確稱定，置5 mL容量瓶中，加內部標準品溶液1 mL，再以移動相溶解並定容，供作檢品溶液(1000 µg/mL)。

4. 層析感度檢測液配製

精確量取檢品溶液1 mL，置100 mL容量瓶中，加移動相至定容，混勻，供作層析感度檢測原液(10 µg/mL)。精確量取此溶液5 mL，置100 mL容量瓶中，加移動相至定容，混勻，供作層析感度檢測液(0.5 µg/mL)。

5. 純度試驗

取檢品溶液20 µL，注入液相層析儀分析，記錄其層析圖譜，測計其各波峯面積，以及各波峯面積與全波峯面積總和比較之相對百分率(%) (各波峯面積百分率小於0.01%者捨之)。

高效液相層析條件：

(1) 檢出器：紫外光吸光光度計(波長340 nm)

(2) 層析管：C₁₈-AR-II，Cosmosil 4.6 mm × 15 cm，5 µm

(3) 層析管溫度：30°C

(4) 流速：1.0 mL/min

(5) 層析條件測試：取Sennoside A及Sulindac各1 mg，分置於5 mL容量瓶中，加移動相溶解並定容。取上述溶液各20 µL，依上述測定條件注入液相層析儀測定，其流出順序依次為Sennoside A、Sulindac，且兩者波峯分離完全。

(6) 檢出感度：取層析感度檢測液20 µL，依上述高效液相層析條件檢測。Sennoside A波峯面積以自動積分法確實計算調整

(約為層析感度檢測原液層析結果中，Sennoside A波峯高度之20%)。

(7)層析測定範圍：溶媒波峯出現後，Sennoside A波峯滯留時間約3倍之範圍。

(8)再現性測試：上述層析感度檢測原液，重複注入6次，Sennoside A波峯面積之相對標準偏差不得大於1.5%。

(一)紅外光吸光度測定

取預經室溫減壓(5 mmHg以下)乾燥12小時之檢品原料，按中華藥典第六版⁽⁸⁾分光吸光度測定法-紅外光吸光度測定法溴化鉀錠法測定之，其吸收光譜與日本藥局方Sennoside A對照標準品以同法測得者，於相同波數處呈最大吸收。

(四)水分含量測定

本檢品原料按照中華藥典第六版⁽⁸⁾水分測定法-費氏法測定之。

(五)熔融溫度測定

本檢品原料按照中華藥典第六版⁽⁸⁾熔融溫度測定法測定之。

(六)核磁共振光譜測定(NMR)

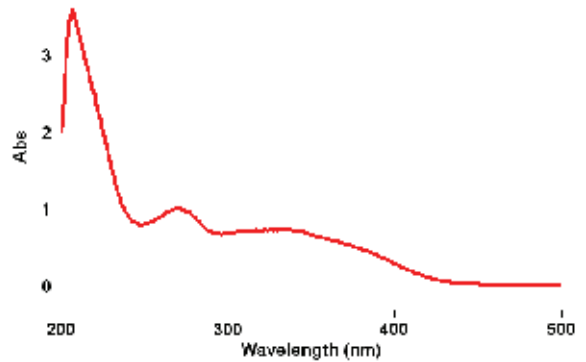
取檢品原料適量放入NMR Tube，溶於DMSO- d_6 溶劑後，測定之。

(七)元素分析(EA)

本檢驗委託台灣大學貴重儀器中心檢測。

結 果

一、Sennoside A檢品原料驗收試驗



圖一、Sennoside A檢品原料之紫外光吸光度光譜圖

為使本計畫「Sennoside A對照標準品」品質可達一定之標準，訂定嚴謹之標準品品質規格之採購程序，採購之Sennoside A檢品原料，經分裝(20 mg /瓶)，共計250瓶。依統計學原理，以隨機抽樣方式，抽驗 $\sqrt{n} + 1$ 瓶(共17瓶)，由TFDA執行下列試驗，以評估本次採購之檢品原料，其試驗結果分述如下：

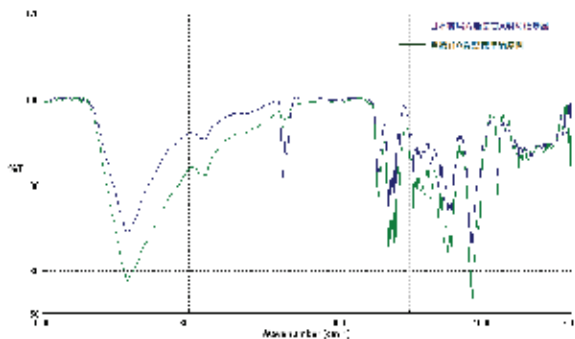
(一)確認試驗

1. 紫外光吸光度測定

依材料與方法三、(一)之紫外光吸光度測定法試驗結果，其光譜圖如圖一，試驗數據(如表一)顯示，其最大吸收波長($\lambda_{\max}$)平均值分別為 270.0 ± 0.6 nm、 333.2 ± 1.0 nm，相對標準偏差分別為0.2%、0.3% ($n = 6$)；而各最大吸收波長之比吸光度($E_{1\text{cm}}^{1\%}$)平均值分別為 214.9 ± 2.5 、 160.7 ± 1.5 ，相對標準

表一、Sennoside A檢品原料之紫外光吸光度測定結果(驗收試驗)

	重覆試驗						Aver. (Mean $\pm$ S.D.)	R.S.D. (%)
	1	2	3	4	5	6		
最大吸收波長($\lambda_{\max}$, nm)								
$\lambda_{1\max}$	269.0	270.0	270.0	271.0	270.0	270.0	270.0 ± 0.6	0.2
$\lambda_{2\max}$	332.0	332.0	333.0	334.0	334.0	334.0	333.2 ± 1.0	0.3
比吸光度($E_{1\text{cm}}^{1\%}$)								
$E_{1\text{cm}}^{1\%}$	217.9	217.8	214.8	214.6	212.3	212.2	214.9 ± 2.5	1.2
$E_{2\text{cm}}^{1\%}$	160.3	160.1	162.3	162.8	159.0	159.8	160.7 ± 1.5	0.9



圖二、Sennoside A檢品原料與日本藥局方Sennoside A對照標準品之紅外光吸光度光譜比對圖

偏差分別為1.2%、0.9% (n = 6)。

2. 紅外光吸光度測定

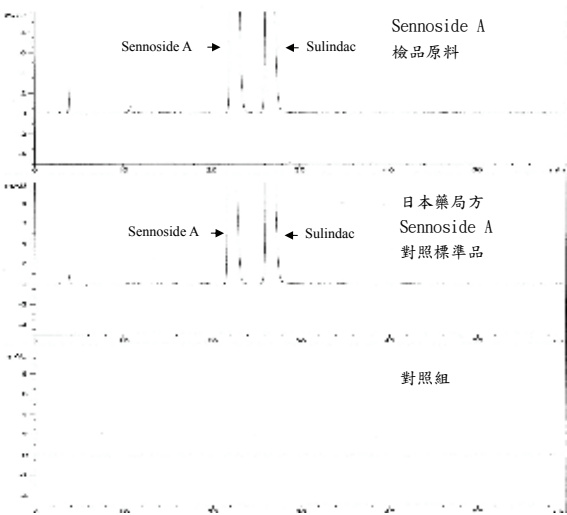
依材料與方法三、(三)之紅外光吸光度測定法試驗結果，其光譜圖如圖二，與日本藥局方Sennoside A對照標準品光譜圖比較，在3421 cm⁻¹，1710 cm⁻¹，1636 cm⁻¹及1072 cm⁻¹附近有Sennoside A特有之吸收。

(二)純度試驗－高效液相層析試驗

本實驗係參照「日本藥局方Sennoside A對照標準品HPLC純度試驗法」⁽⁷⁾進行純度試驗，抽驗之17瓶檢品原料均依相同試驗法操作。為檢測檢液中其他可能存在之微量不純物，選擇主成分Sennoside A滯留時間約3倍之時間內作為波峯面積測定範圍。依高效液相層析試驗結果，其層析圖譜如圖三。計算各瓶檢品原料之層析試驗中，波峯面積百分率≥0.01%，且再現性較佳之波峯，其試驗結果如表二。檢品原料之純度介於98.80-98.91%，平均純度為98.87±0.05%，相對標準偏差為0.05%。本計畫另以日本藥局方Sennoside A對照標準品依相同之配製及試驗法進行試驗，其層析圖譜如圖三，而純度亦達99.21%。

(三)水分含量測定

本檢品原料以Karl Fisher電量滴定法測定，其水分含量為5.60±0.85%，相對標準偏差為15.11% (n = 4)。



圖三、Sennoside A檢品原料與日本藥局方Sennoside A對照標準品之高效液相層析圖譜

表二、Sennoside A檢品原料之純度試驗結果(驗收試驗)

樣品編號	純度(%) (n = 3)	
	Aver. (Mean ± S.D.)	R.S.D. (%)
1	98.91 ± 0.04	0.04
2	98.82 ± 0.02	0.03
3	98.80 ± 0.03	0.03
4	98.83 ± 0.02	0.02
5	98.85 ± 0.09	0.09
6	98.90 ± 0.04	0.04
7	98.84 ± 0.04	0.04
8	98.90 ± 0.03	0.03
9	98.88 ± 0.02	0.02
10	98.88 ± 0.03	0.03
11	98.85 ± 0.04	0.04
12	98.89 ± 0.03	0.03
13	98.86 ± 0.02	0.02
14	98.85 ± 0.10	0.10
15	98.88 ± 0.05	0.05
16	98.84 ± 0.05	0.05
17	98.91 ± 0.01	0.01
Aver. (Mean ± S.D.)		98.87 ± 0.05
R.S.D. (%)		0.05

表三、Sennoside A檢品原料分裝後之內容量測定結果

樣品編號	內容量 (毫克/瓶)	樣品編號	內容量 (毫克/瓶)
1	20.90	10	21.22
2	20.38	11	20.37
3	20.88	12	21.20
4	22.22	13	21.70
5	20.80	14	21.86
6	20.48	15	20.69
7	21.27	16	21.48
8	21.12	17	21.08
9	20.37		

(四) 熔融溫度測定

本檢品原料以熔點測定器測定，其熔融溫度為217.2°C (n = 6)。

(五) 內容量測定

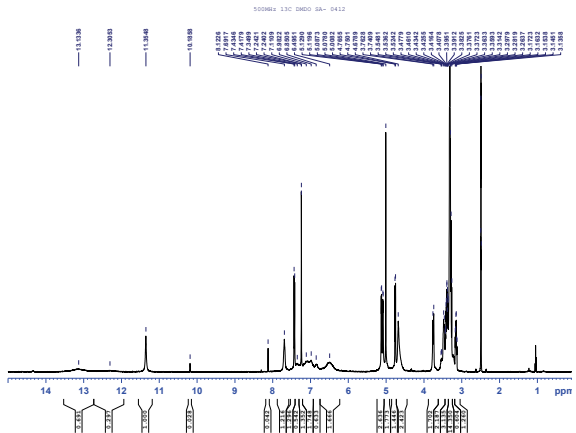
17瓶檢品原料其內容量測定結果如表三，分裝後其內容量達20 mg之101.6-111.1%之間。

(六) 核磁共振光譜測定

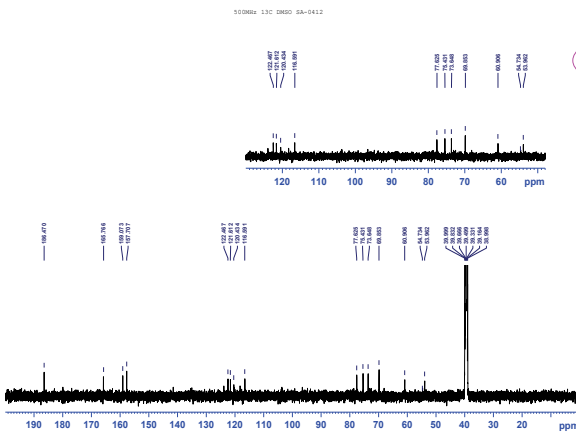
本檢品原料委託台灣大學貴重儀器中心檢測，其¹H-NMR及¹³C-NMR光譜圖如圖四、五。

(七) 元素分析

本檢品原料委託台灣大學貴重儀器中心檢測，結果如表四，C：55.0%，H：5.1%。與理論值C：58.5%，H：4.4%，稍有差異。



圖四、Sennoside A檢品原料之¹H-NMR 圖譜



圖五、Sennoside A檢品原料之¹³C-NMR 圖譜

二、Sennoside A實驗室間共同試驗

(一) 確認試驗

1. 紫外光吸光度測定

依紫外光吸光度測定法試驗結果，其試驗數據(表五)顯示，最大吸收波長(λ_{max})平均值分別為269.8 ± 0.4 nm、333.5 ± 0.4 nm，相對標準偏差分別為0.2%、0.1% (n = 7)；最大吸收波長之比吸光度($E_{1cm}^{1\%}$)平均值分別為218.4 ± 13.2、164.8 ± 9.9，相對標準偏差分別為6.0%、6.0% (n = 7)。

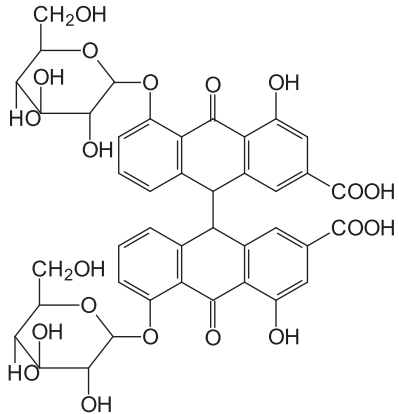
2. 紅外光吸光度測定

本檢品原料在不同實驗室，依紅外光吸光度測定法試驗結果，其光譜圖顯示在3421 cm^{-1} 、1710 cm^{-1} 、1636 cm^{-1} 及1072 cm^{-1} 附近有Sennoside A特有之吸收。

(二) 純度試驗－高效液相層析試驗

本實驗係參照「日本藥局方Sennoside A對照標準品HPLC純度試驗法」進行純度試驗，9個參與共同試驗之實驗室，均依相同試驗法操作。為檢測檢液中其他可能存在之微量不純物，選擇主成分Sennoside A滯留時間約3倍之時間作為波峯面積測定範圍。各實驗室執行再現性測試結果，其Sennoside A波峯面積之相對標準偏差均小於1.5% (n = 6)。而本項試驗計算波峯面積百分率 ≥ 0.01 %，且

表四、Sennoside A檢品原料之元素分析結果

標準品	分子式 (分子量)	理論值	本品之實測值
Sennoside A 	$C_{42}H_{38}O_{20}$ (862.195644)	C 58.5% H 4.4%	
Sennoside A + 1H ₂ O	$C_{42}H_{40}O_{21}$ (880.206208)	C 57.3% H 4.6%	
Sennoside A + 2H ₂ O	$C_{42}H_{42}O_{22}$ (898.216773)	C 56.1% H 4.7%	
Sennoside A + 3H ₂ O	$C_{42}H_{44}O_{23}$ (916.227338)	C 55.0% H 4.8%	C 55.0% H 5.1%

表五、Sennoside A檢品原料之紫外光吸光度測定結果(實驗室間共同試驗)

	實驗室代號*									Aver. (Mean ± S.D.)	R.S.D. (%)
	A	B	C	D	E	F	G	H	I		
最大吸收波長 ($\lambda_{\max}$, nm)											
$\lambda_{1\max}$	270.0	269.5	269.8	270.2	—	270.0	270.0	269.0	—	269.8 ± 0.4	0.2
$\lambda_{2\max}$	333.2	333.0	333.7	333.1	—	334.0	334.0	333.3	—	333.5 ± 0.4	0.1
比吸光度 ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$)											
$E_{1\text{cm}}^{1\%}$	214.9	243.8	202.8	224.1	—	214.4	220.1	209.0	—	218.4 ± 13.2	6.0
$E_{2\text{cm}}^{1\%}$	160.7	183.3	153.0	169.2	—	162.4	167.7	157.0	—	164.8 ± 9.9	6.0

*參與共同試驗之9個實驗室分別以英文字母A-I表示

再現性較佳之波峯，檢測結果如表六，各個實驗室檢出之微量不純物，依其HPLC層析試驗滯留時間之先後順序排列，“→”代表Sennoside A與各微量不純物間滯留時間之相關位置。結果顯示，各實驗室分別檢出1-13個微量不純物，或因儀器感度之差異，導致不純物之數量不一，惟各別不純物之波峯面

積百分率大約均≤0.56%，而各實驗室檢測之總不純物波峯面積百分率範圍介於0.77-1.50%。

(三)水分含量測定

本檢品原料在不同實驗室以不同Karl Fisher電量滴定儀測定，其水分含量分別為5.60% (n = 6)、5.14% (n = 3)與4.20%(n = 3)。

表六、Sennoside A檢品原料之高效液相層析純度試驗
結果(實驗室間共同試驗)

不純物代號	不純物含量 ^a (%)					
	A	B	C	D	H	I
Imp.1	0.56	0.02	0.04	0.33	0.05	0.05
Imp.2	0.42	0.06	0.32	0.01	0.47	0.46
Imp.3	0.15 ^b →	0.03	0.06	0.20	0.08	0.27
Imp.4		0.04	0.19	0.04	0.48	0.15
Imp.5		0.49	0.06 →	0.11 →	0.12 →	0.08 →
Imp.6		0.02	0.10	0.08		0.14
Imp.7		0.29	0.27			
Imp.8		0.06	0.11			
Imp.9		0.18				
Imp.10		0.06 →				
Imp.11		0.10				
Imp.12		0.13				
Imp.13		0.04				
總不純物含量	1.13	1.50	1.15	0.77	1.20	1.14
純度(%)	98.87	98.50	98.85	99.23	98.80	98.86

^a 係檢品溶液之高效液相層析純度試驗中，各波峯面積與全波峯面積比較，其百分率 $\geq 0.01\%$ 者

^b 符號係表示Sennoside A在各實驗室純度試驗之HPLC層析結果中，與各微量不純物滯留時間之相關位置

(四) 熔融溫度測定

本檢品原料在不同實驗室以不同熔點測定器測定，其熔融溫度分別為217.2°C (n = 6)、218.4°C (n = 1)、209.2°C (n = 3)、217.2°C (n = 1)、225.7°C (n = 3)、204.7°C (n = 1)與207.0°C (n = 1)。

(五) 核磁共振光譜測定

本檢品原料在不同實驗室內，依核磁共振光譜測定試驗結果，其¹H-NMR及¹³C-NMR光譜圖如圖四、五。

討 論

一、Sennoside A檢品原料品質試驗

為驗證本批Sennoside A檢品原料品質均能符

合相關規格，分別進行「驗收試驗」與「實驗室間共同試驗」。針對試驗結果，分述如下：

(一) 含量測試

Sennoside A檢品原料分裝後，抽樣 $\sqrt{n} + 1$ 瓶，進行含量測試，其每瓶之含量為20 mg之101.6-111.1%之間，顯示產品之分裝量應值得信賴。

(二) 確認試驗

1. 以「紫外光吸光度測定」試驗而言，驗收試驗結果顯示，本批Sennoside A檢品原料之最大吸收波長($\lambda_{\max}$)平均值分別為270.0 $\pm$ 0.6 nm、333.2 $\pm$ 1.0 nm，相對標準偏差分別為0.2%、0.3%；最大吸收波長之比吸光度($E_{1\text{cm}}^{1\%}$)平均值分別為214.9 $\pm$ 2.5、160.7 $\pm$ 1.5，相對標準偏差分別為1.2%、0.9% (n = 6)。而實驗室間之共同試驗結果，最大吸收波長($\lambda_{\max}$)平均值分別為269.8 $\pm$ 0.4 nm、333.5 $\pm$ 0.4 nm，相對標準偏差分別為0.2%、0.1% (n = 7)；最大吸收波長之比吸光度($E_{1\text{cm}}^{1\%}$)平均值分別為218.4 $\pm$ 13.2、164.8 $\pm$ 9.9，相對標準偏差分別為6.0%、6.0% (n = 7)。如以最大吸收波長($\lambda_{\max}$)及比吸光度($E_{1\text{cm}}^{1\%}$)之平均值來看，驗收試驗結果與實驗室間共同試驗結果差異不大，但以各實驗室數據來看，實驗室間之比吸光度($E_{1\text{cm}}^{1\%}$)略有差異，推測應為各實驗室間不同儀器與人員之操作造成之差異。

2. 有關「紅外光吸光度測定」試驗，各實驗室間之檢測光譜圖相仿，另與日本藥局方Sennoside A對照標準品光譜圖比對結果，亦屬一致。

3. 水分含量測定方面，在不同實驗室以不同儀器之試驗結果，其水分含量分別為5.60、5.14與4.20%，本項試驗屬微量檢測，原料之水分含量不均，實驗室環境及人為操作均會影響試驗結果。

4. Sennoside A熔融溫度檢測結果，各實驗室均不相同，測試結果範圍為204.7-225.7°C。因本次實驗所用之熔點測定裝

置，其結果是以目視判定，推測應為人為因素與各實驗室間使用儀器之差異導致。參考日本藥局方第16版與美國藥典(USP) Sennoside A對照標準品之物質安全資料，其收載熔融溫度皆為200-240℃，本檢測項目檢驗結果雖各實驗室均不相同，亦均在合理範圍內。

5. 元素分析結果(C: 55.0%, H: 5.1%)與理論值(C: 58.5%, H: 4.4%)兩者不一，推測原料可能含有結晶水。經與含3個分子結晶水之Sennoside A元素分析理論值比對，數值相近，推測本品應屬含3個結晶水(如表四)之成品。
6. 核磁共振光譜測定結果所得之¹H-NMR及¹³C-NMR光譜圖與日本藥局方Sennoside A對照標準品光譜圖比對結果，亦屬一致。

(三)純度試驗

1. 本實驗曾評估日本藥局方第15版番瀉葉、大黃、大黃甘草湯中Sennoside A定量試驗法⁽⁹⁾，最後參照藥局方第15版番瀉葉中Sennoside A定量試驗法與「日本藥局方番瀉苷素對照標準品HPLC純度試驗法」⁽⁷⁾皆相同之試驗方法進行純度試驗，再以偵測波長270 nm與340 nm進行純度試驗結果分析，結果顯示以不同波長分析其純度，約有0.5-0.6%之差異。因以偵測波長340 nm分析，干擾物質較少，純度檢測結果也較高，故本實驗以340 nm作為偵測波長。
2. 17瓶檢品原料之驗收試驗結果，其純度均在98.80%以上，平均純度為98.87±0.05%，相對標準偏差為0.05%。而實驗室間共同試驗，相同原料在不同實驗室、儀器、試藥及人員操作，9個共同試驗實驗室檢出微量不純物數量不一，其總不純物含量介於0.77-1.50%之間，純度介於99.23-98.50%。中藥屬天然物，其成分複雜，為使中藥對照標準品具有一定之品質，進行實驗室間共同試驗評估，其純度較能客觀且合理。本實驗亦曾以日本藥局方Sennoside A對照標準品，依本試驗方

法進行試驗，其純度達99.21%。以中藥成分對照標準品而言，本批Sennoside A檢品原料試驗結果，各別不純物之含量百分率均≤0.56%，總不純物含量百分率亦均≤1.50%，顯示其品質應可做為成分含量測定比對用。

結 語

- 一、本計畫嚴選Sennoside A檢品原料，經由「驗收試驗」與「實驗室間共同試驗」，證實具有「Sennoside A對照標準品」之品質，其純度達到98.5%以上，所建立中藥成分Sennoside A對照標準品之品質規範可供業界供參。
- 二、市售中藥成分對照標準品品質參差不齊，中藥成分對照標準品需有一定之製造品管模式與公認之品質標準，方能符合所需。
- 三、訂定中藥成分對照標準品之品質規範，為求數據之客觀與合理，實驗室間共同比對試驗應屬必要。

誌 謝

本試驗過程中，為求數據之客觀與合理，進行之「實驗室間共同試驗」，特別感謝財團法人工業技術研究院生醫與醫材研究所、財團法人醫藥工業技術發展中心天然藥物研發處、財團法人台灣必安研究所、勝昌製藥廠股份有限公司、莊松榮製藥廠有限公司、科達製藥股份有限公司、台灣檢驗科技股份有限公司、美和學校財團法人美和科技大學農水產品檢驗服務中心等8個實驗室協助，使本次試驗得以順利完成。

參考文獻

1. 劉芳淑、羅吉方、林哲輝。2006。建立中藥成分對照標準品實驗室間比對試驗機制。藥物食品檢驗局中程綱要研究計畫報告。
2. 劉芳淑、陳思慧、羅吉方、林哲輝。2008。藥成份對照標準品之標定與供應-Glycyrrhizinic acid。藥物食品檢驗局調查研究年報，26：166-175。

3. 劉芳淑、陳思慧、羅吉方、林哲輝。2009。藥成份對照標準品之標定與供應-Peaponiflorin。藥物食品檢驗局調查研究年報，27：101-111。
4. 徐雅慧、陳思慧、劉芳淑、劉宜祝、林哲輝、羅吉方。2010。中藥成份對照標準品之標定與供應-Baicalin。食品藥物研究年報，1：237-247。
5. 徐雅慧、陳思慧、劉芳淑、劉宜祝、林哲輝、羅吉方。2010。中藥成份對照標準品之標定與供應- Berberine chloride。食品藥物研究年報，1：224-236。
6. 徐雅慧、陳思慧、劉芳淑、劉宜祝、林哲輝、羅吉方。2011。中藥定量用標準品之標定-Puerarin。食品藥物研究年報，2：395-404。
7. Okada, S., Kitajima, A., Tanimoto, T., Suzuki, H. and Satake, M. 1996. Sennosides Reference Standard (Control 951) of the National Institute of Health Sciences. Bull. Natl. Inst. Health Sci. 114: 106-112.
8. 行政院衛生署中華藥典編修委員會。2011。中華藥典第七版。行政院衛生署食品藥物管理局，台北。
9. 日本藥局方編輯委員會。2006。日本藥局方第十五改正。1231-1232、1236-1237、1280-1281頁。廣州書局，東京。

Qualitative Evaluation for the Preparation of Chinese Medicine Reference Standard-Sennoside A

YA-HUI HSU, SZU-HUI CHEN, CHEN-CHUNG WANG, YI-CHU LIU AND DANIEL YANG-CHIH SHIH

Division of Research and Analysis, FDA

ABSTRACT

The raw material of sennoside A was examined prior to the preparation of the “Sennoside A Reference Standard”. The physico-chemical properties of the candidate material were evaluated through a collaborative study of nine laboratories. Analytical data obtained were summarized as following, the UV maximum absorption wavelength($\lambda_{\max}$): 269.8 and 333.5 nm; the corresponding specific absorbance ($E_{1\%}^{1\text{cm}}$) at the maxima wavelength: 218.4 and 164.8, respectively. IR spectra presented IR absorption at 3421, 1710, 1636 and 1072 cm^{-1} . HPLC analysis showed 1-13 impurities where individual amount was $\leq 0.56\%$ and data from each single laboratory indicated the total impurity amount was $\leq 1.50\%$. Based on the above results, the candidate material met the requirement of authorization as the “Sennoside A Reference Standard.”

Key words: sennoside A, chinese medicine reference standard, collaborative study