

推動中藥指標成分供應計畫（一）
To establish the supply system of herbal
medicine marker

許世興

財團法人製藥工業技術發展中心

摘要

本中心繼86年度供應由中醫藥委員會提供Honokiol、Magnonol等之十五種指標成分，今年度繼續從中醫藥委員會提供Geniposide、Arctiin等指標成分，篩選20種指標成分，經HPLC分析檢測純度在98%以上者有Geniposide、Osthole等19種指標成份，純度在98%以下者有Scopletin等指標成分，將Scopletin單離純化後，其純度亦達98%以上，以上20種指標成分並經NMR、IR、UV、MS等光譜測定，其結果均與文獻相一致，已完成分裝。

關鍵詞：Honokiol、Magnonol、Arctiin、Geniposide、Osthole、Scopletin、NMR、IR、UV、MS。

ABSTRACT

Last year, our center already finished the isolation and purification of fifteen reference standard compounds. This year, we achieve the same results of as twenty compounds provided by Chinese Medical committee. These twenty reference standard compounds are Geniposide, Genipin-1-O-(-gentiobioside, Ginsenoside Rb1, Ginsenoside Re, Ginsenoside Rg1,

Osthole, Saikosaponin a, Saikosaponin c, Scopoletin, Atractylenolid III, Arctiin, Arctigenin, Sinomenine, Ferulic acid, Paeono, (-Eudesmol, Kaempferol-3-rutinoside, Denbinobin, Catechin and 4-(4'-hydroxyphenyl)-2-butanone-4'-O-(-D-glucopyranoside. It is found that expect Scopoletin, all of these compounds have 98 % of purity by HPLC analysis. After isolation and purification, the purity of Scopoletin also becomes 98 % . These compounds have be identified by NMR, IR, UV and MS analytical instrument. The results are same as published papers.

Key words: Honokiol, Magnonol, Arctiin, Geniposide, Osthole, Scopoletin, NMR, IR, UV, MS .

壹、前言

中藥由於其藥性溫和、副作用小，而且對諸多人體慢性疾病及西醫束手無策的各類疑難雜症療效顯著，因此廣受歡迎而能在現代醫學潮流中長久屹立不搖。

唯傳統中藥講究性味歸經、君臣佐使之學，對於現代藥學或藥理學之探討則尚不完備，以致中藥之有效成分還不能完全掌握，而且因中藥藥材基源、產地、生長年數、栽培方法、採收季節、炮炙方法等等之不同，往往在品質上有很大的差異而難以控制，導致中藥產業面臨製程、品管及研發新藥，甚至法規的制訂上的種種困難，其產品則始終僅被西洋各國視為健康食品而不易以藥物形態打入國際市場，無法提高其應有之附加價值，殊屬可惜。

目前中藥科學化之工作首重建構健全的法規、成熟的製造技術、精密的品質管制及完善的資訊服務系統等優良的產業發展環境，使中藥製劑具有製程精確、標示明確、品質穩定、服用簡便、國家認證等特點，來達成中藥之初期科學化目標。

雖然中藥之有效成分還未能完全明瞭與掌握，近年來選擇藥材中某些成分作為含量測定之指標，作為藥材、製程與製劑的品管手法，定量製劑中之指標成分，以保證其品質之化學相等性的可行

性，逐漸為業者所接受，因此欲提升中藥製劑之品質，除了適當管制藥材基源外，儘速建立精密且能量化的指標成分分析方法來達到從藥材、製程到製劑的品質管理應是我國中藥科學化工作的當務之急，因此指標成分的標準品在推動中藥廠實施品質管理提升中藥品質，就顯得格外重要了。

雖然國內學術單位及藥技中心迄目前進行了約五十餘種指標成分的單離純化工作，但都尚未達到商品化供應業者的目標，業者實施品質管理所需之標準品全部仰賴日本或法國，不但價格昂貴且購買不易，而且純化標準不一致，造成國內藥廠及研究單位進行研究、品管或臨床試驗的困難，遲滯中藥科學化的腳步。

為此藥檢局於八十四年四月十三日在藥技中心“北區廠商座談會”上呼籲由藥技中心成立「指標成分標準品專責研究單位」，統籌規劃國內中藥指標成分標準品供應業者；八十四年八月藥技中心邀請

國內二十七位中藥學者專家先期規劃工業局亞太製造中心科學化中藥發展計畫時亦將中藥指標成分之製備與供應列為重點工作計畫之一。

八十五年三月二十五日衛生署中醫藥委員會召開『台灣地區中醫藥研究之未來發展方向』討論會，會上建請中醫藥委員會及經濟部工業局撥款協助成立專案單位，製備規格一致之標準品以合理價格供應國內藥廠及研究單位，解決目前欠缺標準品之困難；八十五年六月二十一日衛生署中醫藥委員會召開「如何運用該會現有中藥指標成分」會議，達成共識將37種中藥指標成分提供給藥技中心運用，藥檢局亦極力促成藥技中心成為中藥指標成分供應單位，加速落實此供應單位之成立。

八十五年六月經濟部生技製藥推動小組承續亞太製造中心中藥科學化發展計畫，積極推動『建立中藥指標成分製造及供應單位計畫』，至此國內產官學研諸界已凝聚共識，本計畫之構想遂成。

八十六年度本中心成立「中藥指標成分製造及供應」常設專責單位，完成Honokiol、Magnolol、Schizandrin、Gomisin A、Paeoniflorin、Hesperidin、Narigin、Daidzein、Puerarin、

Gentiopicroside、Phillygenin、Phillyrin、Evodiamine、Rutaecarpine、Astragaloside IV 十五種指標成分之規格與檢驗方法，以合理價格供應國內藥廠及研究單位所需之中藥指標成分標準品。

今年度繼續完成 Geniposide、Genipin-1-O-(-gentiobioside、Ginsenoside Rb1、Ginsenoside Re、Ginsenoside Rg1、Osthole、Saikosaponin a、Saikosaponin c、Scopoletin、Atractylenolid III、Arctiin、Arctigenin、Sinomenine、Ferulic acid、Paeonol、(-Eudesmol、Kaempferol-3-rutinoside、Denbinobin、Catechin、4-(4'-hydroxyphenyl)-2-butanone-4'-O-(-D-glucopyranoside 共二十種指標成分之規格與檢驗方法，以達供應之目標。

貳、材料與方法

一、彙整中醫藥委員會所提供歷年衛生署計畫研發所得指標成分進行純化或純度標定，選定20種指標成分以便分裝後供應。

二、研定20種指標成分標準品規格，用以保證所供應標準品品質一致性。

(一)、材料

A. 使用儀器設備：

1. UV/分光光度計：8452A (Hewlett Packard)。
2. 霍氏轉換紅外線光譜儀：FTS 155/165 (Win-IR)。
FT/IR 300E (Jasco)
3. 核磁共振光譜儀：200 Spectrometer (Varian-Gemini)
300 Spectrometer (Bruker-AM)。
4. 質譜儀：GCQ (Finnigan MAT)。
5. 自動點樣器：LINOMAT IV (CAMAG)。
6. 照像系統：REPROSTAR II (CAMAG)。
7. 高速液相層析儀1 (Waters)：
 - (1). 控制器：600。
 - (2). 自動注射器：717 plus。
 - (3). 可變吸收光偵測器：486。

(4).積分器：746。

(5).幫浦：600。

8. 高速液相層析儀2 (Hewlett Packard 1100)：

(1).除氣器：G1322A。

(2).自動注射器：G1313A。

(3).Diode-Array 偵測器：G1315A。

(4).幫浦：G1311A。

(5).溫控柱室：G1316A。

9. 熱差分析儀：DSC 10 (TA Instruments)：

B. 使用材料：

1. 指標成分：山梔子(Geniposide、Genipin-1-O-(gentiobioside)、三七 (Ginsenoside Rb1、Ginsenoside Re、Ginsenoside Rg1)、獨活 (Osthole)、柴胡 (Saikosaponin a、Saikosaponin c)、月橘花 (Scopoletin)、白朮 (Atractylenolid III)、牛蒡子 (Arctiin、Arctigenin)、木防己 (Sinomenine)、當歸 (Ferulic acid)、牡丹皮 (Paeonol)、蒼朮 ((-)-Eudesmol)、紅花 (Kaempferol-3-rutinoside)、石斛 (Denbinobin)、大黃 (Catechin、4-(4'-hydroxyphenyl)-2-butanone-4'-O-(D-glucopyranoside)各指標成分均由中醫藥委員會提供。

2. 溶媒：Acetone、Chloroform、Ethyl acetate、n-Hexane、Methanol、Toluene等溶媒均為(HPLC)試藥級。

3. 薄層色層分析：Kieselgel 60 F254 Silica gel per-coated aluminum plate (E.Merck)。

4. 顯色劑：(1). 10% 硫酸噴灑，加熱後呈色。

(2). 10% 磷鉬酸噴灑，加熱後呈色。

(3). 碘薰

二、方法：

1. HPLC之分析：將十五種指標成分檢液進行HPLC之純度檢

測，分析條件，如表一。

2. TLC之分析：將十五種指標成分檢液依各指標成分之展開溶劑展開，並用各顯色劑顯色，方法如表二。

參、結果

將中醫藥委員會所提供、藥檢局所提供指標成分經由多次HPLC條件之尋找，Geniposide、Genipin-1-O-(-gentiobioside、Ginsenoside Rb₁、Ginsenoside Re、Ginsenoside Rg₁、Osthole、Saikosaponin a、Saikosaponin c、Scopoletin、Atractylenolid III、Arctiin、Arctigenin、Sinomenine、Ferulic acid、Paeonol、(-Eudesmol、Kaempferol-3-rutinoside、Denbinobin、Catechin、4-(4'-hydroxyphenyl)-2-butanone-4'-O-(-D-glucopyranoside均可得純度在98%以上，可立即進行分裝，而Scopoletin純度偏低，故將Scopoletin另行單離純化(甲醇再結晶)後純度可達98%以上，以上二十種指標成分分別敘述於檢討中。

肆、討論

二十種指標成分之分離結構及各項圖譜、分析條件等資料敘述於下。

伍、結論與建議

一、結論

完成20種中醫藥委員會、藥檢局提供之指標成分標準品之規格制定、鑑定、分裝及供應

1. HPLC分析檢測純度在98%以上者如下：

Geniposide、Genipin-1-O- β -gentiobioside、Ginsenoside Rb₁、Ginsenoside Re、Ginsenoside Rg₁、Osthole、Saikosaponin a、Saikosaponin c、Scopoletin、Atractylenolid

III、Arctiin、Arctigenin、Sinomenine、Ferulic acid、Paeonol、 β -Eudesmol、Kaempferol-3-rutinoside、Denbinobin、Catechin、4-(4'-hydroxyphenyl)-2-butanone-4'-O- β -D-glucopyranoside等19種指標成份，並經NMR、IR、UV、MS等光譜測定、其結果均與文獻相一致，已完成分裝。

2. HPLC分析檢測純度在98%以上者如下：

Scopoletin指標成分以甲醇再結晶單離純化後，其純度達98%以上，並經NMR、IR、UV、MS等光譜測定，其結果均與文獻相一致，已完成分裝。

3. HPLC分析檢測純度在98%以上者如下：87年度中藥指標成分標準品分裝規格及數量資料表，請參考表三。

4. 由於計畫經費的編列，86年度及87年度共分裝35品項指標成份。其餘12項未分裝之指標成分說明，請參考表四。

二、建議：

1. 本年度中醫藥委員會、藥檢局提供之部分指標成分如Ginsenoside Re、Saikosaponin c、Denbinobin、4-(4'-hydroxyphenyl)-2-butanone-4'-O- β -D-glucopyranoside的量很少(0.5 g以下)，經各項圖譜測定、分析方法建立後，就其成本效益上而言，不合經濟效應，建議應再進行分離，或購買粗品純化。

2. 部分指標成分於植物中含量很少，不符合指標成分的意義，建議應提供國內藥廠品管檢驗較常用之品項。

陸、參考文獻

1. 原田正敏編，繁用生藥的定量，p411-412，廣川書店，(1989)
2. 許鴻源等著，簡明藥材學，p41,43,61,82,108,157,450，新醫藥出版，(1985)

3. 許鴻源著，中藥材之研究，p71,37,175,247，新醫藥出版，(1980)
4. 許鴻源等著：中藥成分之化學，p672,676,807,912,915,945，新醫藥出版，(1979)
5. 中藥檢驗方法專輯(六)，p89,114,115,178,184，行政院衛生署食品檢驗局，(1994)
6. 中藥檢驗方法專輯(八)，p47,111，行政院衛生署食品檢驗局，(1995)
7. 王寶琴，中成藥質量標準與標準物質研究，p493,494,496,504,516,519, 520,524,533，中國醫藥科技出版社，(1994)
8. H. Inouye, Y.Takeda, S. Saito, H. Nishimura and R. Sakuragi, Yakugaku Zasshi, 94, 557, 1974
9. T. Endo and H. Taguchi, Chem.Pharm. Bull., 21, 2684, 1973
10. H. Besso, R. Kasai, J. Wei, J.F. Wang, Y.I. Saruwatari and T. Fuwa, Chem.Pharm. Bull., 30, 4534, 1982
11. O.Tanaka and S. Yahara, Phytochemistry, 17, 1353, 1978
12. S. Yahara, K. Kaji and O. Tanaka, Chem.Pharm. Bull., 27, 88, 1979
13. H. Sasaki, H. Taguchi, T. Endo and I. Yosioka, Chem.Pharm. Bull., 28, 1847, 1980
14. K. Tori, S. Seo, Y. Yoshimura, M. Nakamura, Y. Tomita and H. Ishii, Tetrahedron Letters, 46, 4167, 1976
15. 許國久、張瓊文，白朮指標成分之製備和市售藥材HPLC之分析，中醫藥年報第十四期第三冊，P101(1995)
16. M.M.A. Rahman, P.M.Dewick, D.E. Jackson and J.A. Lucas, Phytochemistry, 29, 1971, 1990
17. 吳金濱、蘇麗玲、鍾瑩慧，中藥指標成分之分離及精製造(II),防己指標成分之製備，中醫藥年報第十四期第三冊，P1(1995)

18. 張淑真、林炯興、王仁邦等，當歸指標成分之製備，中醫藥年報第十四期第二冊，P361(1995)
19. Y. Nishikkawa, T. Seto, Y. Watanabe and I. Yasuda, Yakugaku Zasshi, 97, 515, 1977
20. S.Takagi, M. Yamaki, K. Masuda and M. Kubota, Yakugaku Zasshi, 97, 1369, 1977
21. P.K. Agrawal, Carbon-13 NMR Of Flavonoids, Elsevier Science Publishing Company
22. 陳建志，石斛指標成分之製備，中醫藥年報第十三期第二冊，P11，(1994)
23. 徐鳳麟，中藥指標成分之製備(一)：金銀花、大黃、澤瀉，中醫藥年報第十二期第二冊，P359，(1993)
24. A.G. gonzalez, C.G. Francisco, R. Freire, R. Hernandez, J.A. Salazar and E. Suarez, Phytochemistry, 15, 344, 1976

表一. 指標成分之HPLC分析條件

編號	指標成分	移動相	波長 (nm)
1	Honokiol	Acetonitrile:Water (60 : 40)	290
2	Magnolol	Acetonitrile:Water (60 : 40)	290
3	Schizandrin	Acetonitrile:Water (50 : 50)	252
4	Gomisin A	Acetonitrile:Water (50 : 50)	252
5	Paeoniflorin	Acetonitrile:Water (20 : 80)	230
6	Hesperidin	Acetonitrile:Water (20 : 80)	280
7	Narigin	Acetonitrile:Water (20 : 80)	280
8	Daidzein	Acetonitrile:Water (30 : 70)	254
9	Puerarin	Acetonitrile:Water (15 : 85)	254
10	Gentiopicroside	Acetonitrile:Water (15 : 85)	270
11	Phillygenin	Acetonitrile:Water (40 : 60)	235
12	Phillyrin	Acetonitrile:Water (30 : 70)	235
13	Evodiamine	Acetonitrile:Water (50 : 50)	270
14	Rutaecarpine	Acetonitrile:Water (60 : 40)	254
* 15	Astragaloside IV	Acetonitrile:Water (43 : 57)	203

* 指標成分 Astragaloside 則以 HP 1047 A Refractive Index Detector 分析之

* comp.1~comp.14 所使用之 Column (a)Cosmosil 5C 18-AR,4.6×250 mm

(b)Nucleosil 10 μ m NH₂,4.6×250 mm

表二. 指標成分之TLC分析條件

編號	指標成分	移動相	波長 (nm)	flow rate (mL/min)
1	Geniposide	氯甲烷/水 (15 : 85)	240	1
2	Genipin-1-O- β -gentiobioside	a. 氯甲烷/0.1%磷酸 (25 : 75) b. 氯甲烷/水 (12 : 88)	254	1
3	Ginsenoside Rb1	氯甲烷/水 (30 : 70)	202	1
4	Ginsenoside Re	氯甲烷/水 (22 : 78)	202	1
5	Ginsenoside Rg1	氯甲烷/水 (23 : 77)	202	1
6	Osthole	氯甲烷/水 (65 : 35)	304	1
7	Saikosaponin a	氯甲烷/水 (40 : 60)	210	1
8	Saikosaponin c	氯甲烷/水 (35 : 65)	210	1
9	scopoletin	氯甲烷/水 (20 : 80)	350	1
10	Atractylenolid III	氯甲烷/水 (55 : 45)	230	1
11	Arctiin	甲醇/水 (30 : 70)	230	1
12	Arctigenin	氯甲烷/水 (45 : 55)	230	1
13	Sinomenine	氯甲烷/水/乙二胺 (1 : 2 : 0.125) 0.1%磷酸使PH=7.2	260	1
14	Ferulic acid	氯甲烷/0.1%磷酸 (20 : 80)	320	1
15	Paeonol	氯甲烷/水 (55 : 45)	273	1
16	β -Eudesmol	氯甲烷/水 (90 : 10)	210	1
17	Kaempferol-3-rutinoside	氯甲烷/0.1%磷酸 (20 : 80)	260	1
18	Denbinobin	氯甲烷/水 (55 : 45)	250	1
19	Catechin	甲醇/0.1%磷酸 (25:75)	280	1
20	4-(4'-hydroxy phenyl)-2-butanone- 4'-O- β -D-glucopyranoside	氯甲烷/水 (15 : 85)	210	1

* comp.1~comp.2 所使用之 column

- a. Cosmosil, 5C 18-AR, 4.6 $\times$ 250 mm
- b. Nucleosil, 10 μ m NH₂, 4.6 $\times$ 250 mm

* comp.3~comp.20 所使用之 column

- a. Cosmosil 5C, 18-AR, 4.6 $\times$ 250 mm
- b. Inertsil ODS-2, 5 μ m 4.6 $\times$ 250 mm

推動中藥指標成分供應計畫（二） To establish the supply system of herbal medicine marker

許世興

財團法人製藥工業技術發展中心

摘要

本中心自86至87年度由中醫藥委員會提供指標成分，經HPLC分析檢測純度在98%以上者有Honokiol, Magnolol, Gomisin A, Paeoniflorin, Hesperidin, Narigin, Daidzein, Puerarin, Phillygenin, Evodianmine, Astragaloside IV, Geniposide, Genipin-1-O- β -gentiobioside, Ginsenoside Rb₁, Ginsenoside Re, Ginsenoside Rg₁, Osthole, Saikosaponin a, Saikosaponin c, Scopoletin, Atractylenolid III, Arctiin, Arctigenin, Sinomenine, Ferulic acid, Paeonol, β -Eudesmol, Kaempferol-3-rutinoside, Denbinobin, Catechin, 4-(4'-hydroxyphenyl)-2-butanone-4'-O- β -D-glucopyranoside等30種指標成份，純度在98%以下者有Schizandrin, Gentiopicroside, Phillyrin, Rutaecarpine, Scopoletin等5種指標成分，經單離純化後，其純度亦達98%以上，以上三十五種指標成分並經NMR、IR、UV、MS等光譜測定，其結果均與文獻相一致，已完成分裝。

關鍵詞：NMR、IR、UV、MS。

ABSTRACT

From past two years, our center already finished the isolation and purification of thirty reference standard compounds, provided by Chinese Medical Committee. These thirty reference standard compounds are Honokiol, Magnolol, Gomisins A, Paeoniflorin, Hesperidin, Narigin, Daidzein, Puerarin, Phillygenin, Evodianmine, Astragaloside IV, Geniposide, Genipin-1-O- β -gentiobioside, Ginsenoside Rb₁, Ginsenoside Re, Ginsenoside Rg₁, Osthole, Saikosaponin a, Saikosaponin c, Scopoletin, Atractylenolide III, Arctiin, Arctigenin, Sinomenine, Ferulic acid, Paeonol, β -Eudesmol, Kaempferol-3-rutinoside, Denbinobin, Catechin and 4-(4'-hydroxyphenyl)-2-butanone-4'-O- β -D-glucopyranoside. It is found that expect Schizandrin, Gentiopicroside, Phillyrin, Rutaecarpine, Scopoletin, all of these compounds have 98% of purity by HPLC analysis. After isolation and purification, the purity of Scopoletin also becomes 98 % . These compounds have been identified by NMR, IR, UV and MS analytical instrument. The results are same as published papers.

壹、前言

中藥由於其藥性溫和、副作用小，而且對諸多人體慢性疾病及西醫束手無策的各類疑難雜症療效顯著，因此廣受歡迎而能在現代醫學潮流中長久屹立不搖。

唯傳統中藥講究性味歸經、君臣佐使之學，對於現代藥學或藥理學之探討則尚不完備，以致中藥之有效成分還不能完全掌握，而且因中藥藥材基源、產地、生長年數、栽培方法、採收季節、炮炙方法等等之不同，往往在品質上有很大的差異而難以控制，導致中藥產業面臨製程、品管及研發新藥，甚至法規的制訂上的種種困難，其產品則始終僅被西洋各國視為健康食品而不易以藥物形態打入國際市場，無法提高其應有之附加價值，殊屬可惜。

目前中藥科學化之工作首重建構健全的法規、成熟的製造技術、精密的品質管制及完善的資訊服務系統等優良的產業發展環境，使中藥製劑具有製程精確、標示明確、品質穩定、服用簡便、國家認證等特點，來達成中藥之初期科學化目標。

雖然中藥之有效成分還未能完全明瞭與掌握，近年來選擇藥材中某些成分作為含量測定之指標，作為藥材、製程與製劑的品管手法，定量製劑中之指標成分，以保證其品質之化學相等性的可行性，逐漸為業者所接受，因此欲提升中藥製劑之品質，除了適當管制藥材基源外，儘速建立精密且能量化的指標成分分析方法來達到從藥材、製程到製劑的品質管理應是我國中藥科學化工作的當務之急，因此指標成分的標準品在推動中藥廠實施品質管理提升中藥品質，就顯得格外重要了。

雖然國內學術單位及藥技中心迄目前進行了約五十餘種指標成分的單離純化工作，但都尚未達到商品化供應業者的目標，業者實施品質管理所需之標準品全部仰賴日本或法國，不但價格昂貴且購買不易，而且純化標準不一致，造成國內藥廠及研究單位進行研究、品管或臨床試驗的困難，遲滯中藥科學化的腳步。

為此藥檢局於八十四年四月十三日在藥技中心“北區廠商座談會”上呼籲由藥技中心成立「指標成分標準品專責研究單位」，統籌規劃國內中藥指標成分標準品供應業者；八十四年八月藥技中心邀請

國內二十七位中藥學者專家先期規劃工業局亞太製造中心科學化中藥發展計畫時亦將中藥指標成分之製備與供應列為重點工作計畫之一。

八十五年三月二十五日衛生署中醫藥委員會召開『台灣地區中醫藥研究之未來發展方向』討論會，會上建請中醫藥委員會及經濟部工業局撥款協助成立專案單位，製備規格一致之標準品以合理價格供應國內藥廠及研究單位，解決目前欠缺標準品之困難；八十五年六月二十一日衛生署中醫藥委員會召開「如何運用該會現有中藥指標成分」會議，達成共識將37種中藥指標成分提供給藥技中心運用，藥檢局亦極力促成藥技中心成為中藥指標成分供應單位，加速

落實此供應單位之成立。

八十五年六月經濟部生技製藥推動小組承續亞太製造中心中藥科學化發展計畫，積極推動『建立中藥指標成分製造及供應單位計畫』，至此國內產官學研諸界已凝聚共識，本計畫之構想遂成。

八十六年度本中心成立「中藥指標成分製造及供應」常設專責單位，完成Honokiol、Magnolol、Schizandrin、Gomisin A、Paeoniflorin、Hesperidin、Narigin、Daidzein、Puerarin、Gentiopicroside、Phillygenin、Phillyrin、Evodiamine、Rutaecarpine、Astragaloside IV十五種指標成分之規格與檢驗方法，以合理價格供應國內藥廠及研究單位所需之中藥指標成分標準品。

八十七年度繼續完成Geniposide、Genipin-1-O- β -gentiobioside、Ginsenoside Rb₁、Ginsenoside Re、Ginsenoside Rg₁、Osthole、Saikosaponin a、Saikosaponin c、Scopoletin、Atractylenolid III、Arctiin、Arctigenin、Sinomenine、Ferulic acid、Paeonol、(-Eudesmol、Kaempferol-3-rutinoside、Denbinobin、Catechin、4-(4'-hydroxyphenyl)-2-butanone-4'-O- β -D-glucopyranoside共二十種指標成分之規格與檢驗方法，以達供應之目標。

貳、材料與方法

一、彙整中醫藥委員會所提供歷年衛生署計畫研發所得指標成分進行純化或純度標定，選定20種指標成分以便分裝後供應。

二、研定20種指標成分標準品規格，用以保證所供應標準品品質一致性。

(一)、材料

A. 使用儀器設備：

1. UV/分光光度計：8452A (Hewlett Packard)。

2. 霍氏轉換紅外線光譜儀：FTS 155/165 (Win-IR)。

FT/IR 300E (Jasco)

3. 核磁共振光譜儀：200 Spectrometer (Varian-Gemini)。

300 Spectrometer (Bruker-AM)。

4. 質譜儀：GCQ (Finnigan MAT)。
5. 自動點樣器：LINOMAT IV (CAMAG)。
6. 照像系統：REPROSTAR II (CAMAG)。
7. 高速液相層析儀1 (Waters)：
 - (1). 控制器：600。
 - (2). 自動注射器：717 plus。
 - (3). 可變吸收光偵測器：486。
 - (4). 積分器：746。
 - (5). 幫浦：600。
8. 高速液相層析儀2 (Hewlett Packard 1100)：
 - (1). 除氣器：G1322A。
 - (2). 自動注射器：G1313A。
 - (3). Diode-Array 偵測器：G1315A。
 - (4). 幫浦：G1311A。
 - (5). 溫控柱室：G1316A。
9. 熱差分析儀：DSC 10 (TA Instruments)：

B. 使用材料：

1. 指標成分：厚朴 (Honokiol, Mangno)、五味子 (Schizandrin, Gomisin A)、芍藥 (Paeoniflorin)、陳皮 (Hesperidin)、葛根 (Daidzein, Puerarin)、龍膽 (Gentiopicroside)、連翹 (Phillygenin)、吳茱萸 (Evodiamine, Rutaecarpine)、黃耆 (Astragaloside)、山梔子 (Geniposide、Genipin-1-O-(-gentiobioside)、三七 (Ginsenoside Rb₁、Ginsenoside Re、Ginsenoside Rg₁)、獨活 (Osthole)、柴胡 (Saikosaponin a、Saikosaponin c)、月橘花 (Scopoletin)、白朮 (Atractylenolid III)、牛蒡子 (Arctiin、Arctigenin)、木防己 (Sinomenine)、當歸 (Ferulic acid)、牡丹皮 (Paeonol)、蒼朮 ((-Eudesmol)、紅花 (Kaempferol-3-rutinoside)、石斛 (Denbinobin)、大黃 (Catechin、4-(4'-hydroxyphenyl)-2-butanone-4'-O-β-D-glucopyranoside)各

指標成分均由中醫藥委員、藥檢局會提供。

2. 溶媒：Acetone、Chloroform、Ethyl acetate、n-Hexane、Methanol、Toluene 等溶媒均為(HPLC)試藥級。

3. 薄層色層分析：

(1) 定性分析採用：Kieselgel 60 F₂₅₄ Silica gel precoated aluminum plate (E.Merck)。

(2) 分離純化採用：Kieselgel 60 F₂₅₄ Silica gel precoated PLC plate 厚度 1 mm 20 × 20 (E.Merck)。

4. 顯色劑：(1). 10% 硫酸噴灑，加熱後呈色。

(2). 10% 磷鉬酸噴灑，加熱後呈色。

(3). 碘薰

二、方法：

1. HPLC 之分析：將十五種指標成分檢液進行 HPLC 之純度檢測，分析條件，如表一。

2. TLC 之分析：將十五種指標成分檢液依各指標成分之展開溶劑展開，並用各顯色劑顯色，方法如表二。

參、結果

將中醫藥委員會所提供、藥檢局所提供指標成分經由多次 HPLC 條件之尋找，Honokiol, Magnolol, Gomisins A, Paeoniflorin, Hesperidin, Narigin, Daidzein, Puerarin, Phillygenin, Evodianmine, Astragaloside IV, Geniposide, Genipin-1-O- β -gentiobioside, Ginsenoside Rb₁, Ginsenoside Re, Ginsenoside Rg₁, Osthole, Saikosaponin a, Saikosaponin c, Scopoletin, Atractylenolide III, Arctiin, Arctigenin, Sinomenine, Ferulic acid, Paeonol, β -Eudesmol, Kaempferol-3-rutinoside, Denbinobin, Catechin, 4-(4'-hydroxyphenyl)-2-butanone-4'-O- β -D-glucopyranoside 均可得純度在 98% 以上，可立即進行分裝，而 Scizandrin, Gentiopicroside, Phillyrin, Rutaecarpine, Scopoletin 純度偏低，故將 Scizandrin 等另行單離純化後純度可達 98% 以上。

四、討論

三十五種指標成分之分離結構及各項圖譜、分析條件等資料敘述八十六及八十七年度推動中藥指標成分報告。

伍、結論與建議

一、結論

完成35種中醫藥委員會、藥檢局提供之指標成分標準品之規格制定、鑑定、分裝及供應

1. HPLC分析檢測純度在98%以上者如下：

Honokiol, Magnolol, Gomisins A, Paeoniflorin, Hesperidin, Narigin, Daidzein, Puerarin, Phillygenin, Evodianmine, Astragaloside IV, Geniposide, Genipin-1-O- β -gentiobioside, Ginsenoside Rb₁, Ginsenoside Re, Ginsenoside Rg₁, Osthole, Saikosaponin a, Saikosaponin c, Scopoletin, Atractylenolide III, Arctiin, Arctigenin, Sinomenine, Ferulic acid, Paeonol, β -Eudesmol, Kaempferol-3-rutinoside, Denbinobin, Catechin, 4-(4'-hydroxyphenyl)-2-butanone-4'-O- β -D-glucopyranoside 等30種指標成份，並經NMR、IR、UV、MS等光譜測定、其結果均與文獻相一致，已完成分裝。

2. HPLC分析檢測純度在98%以上者如下：

Scizandrin, Gentiopicroside, Phillyrin, Rutaecarpine, Scopoletin經單離純化後，其純度達98%以上，並經NMR、IR、UV、MS等光譜測定，其結果均與文獻相一致，已完成分裝。

二、建議：

1. 中心在此次分裝指標成份過程當中，發現中醫藥委員會所提供單離之指標成份，由於存放過久易產生變化且資料不盡完善，使中心增加不少純化及確認的工作，因此希望將來中醫藥委員會能將各專家、學者單離之指標成份，迅速提供本中心分裝以增加時效性，並且將指標成份單離的過程、鑑定的各項圖譜（如：NMR, MS, IR, UV）等資料一併提供，以利中

心之作業。

2. 本年度中醫藥委員會、藥檢局提供之部分指標成份如 Ginsenoside Re、Saikosaponin c、Denbinobin、4-(4'-hydroxy pheny)-2-butanone-4'-O- β -D-glucopyranoside 的量很少 (0.5g 以下)，經各項圖譜測定、分析方法建立後，就其成本效益而言，不合經濟效應，建議應再進行分離，或購買粗品純化。
3. 部分指標成分於植物中含量很少，不符合指標成分的意義，建議應提供國內藥廠品管檢驗較常用之品項。

陸、參考文獻

1. 原田正敏編，繁用生藥_定量，p411-412，廣川書店，(1989)
2. 許鴻源等著，簡明藥材學，p41,43,61,82,108,157,450，新醫藥出版，(1985)
3. 許鴻源著，中藥材之研究，p71,37,175,247，新醫藥出版，(1980)
4. 許鴻源等著：中藥成分之化學，p672,676,807,912,915,945，新醫藥出版，(1979)
5. 中藥檢驗方法專輯(六)，p89,114,115,178,184，行政院衛生署食品檢驗局，(1994)
6. 中藥檢驗方法專輯(八)，p47,111，行政院衛生署食品檢驗局，(1995)
7. 王寶琴，中成藥質量標準與標準物質研究，p493, 494, 496, 504, 516, 519, 520, 524, 533，中國醫藥科技出版社，(1994)
8. H. Inouye, Y. Takeda, S. Saito, H. Nishimura and R. Sakuragi, Yakugaku Zasshi, 94, 557, 1974
9. T. Endo and H. Taguchi, Chem. Pharm. Bull., 21, 2684, 1973
10. H. Besso, R. Kasai, J. Wei, J.F. Wang, Y.I. Saruwatari and T. Fuwa, Chem. Pharm. Bull., 30, 4534, 1982

11. O.Tanaka and S. Yahara, *Phytochemistry*, 17, 1353, 1978
12. S. Yahara, K. Kaji and O. Tanaka, *Chem.Pharm. Bull.*, 27, 88, 1979
13. H. Sasaki, H. Taguchi, T. Endo and I. Yosioka, *Chem.Pharm. Bull.*, 28, 1847, 1980
14. K. Tori, S. Seo, Y. Yoshimura, M. Nakamura, Y. Tomita and H. Ishii, *Tetrahedron Letters*, 46, 4167, 1976
15. 許國久、張瓊文, 白朮指標成分之製備和市售藥材HPLC之分析, 中醫藥年報第十四期第三冊, P101(1995)
16. M.M.A. Rahman, P.M.Dewick, D.E. Jackson and J.A. Lucas, *Phytochemistry*, 29, 1971, 1990
17. 吳金濱、蘇麗玲、鍾瑩慧, 中藥指標成分之分離及精製造(II),防己指標成分之製備, 中醫藥年報第十四期第三冊, P1(1995)
18. 張淑真、林炯興、王仁邦等, 當歸指標成分之製備, 中醫藥年報第十四期第二冊, P361(1995)
19. Y. Nishikkawa, T. Seto, Y. Watanabe and I. Yasuda, *Yakugaku Zasshi*, 97, 515, 1977
20. S.Takagi, M. Yamaki, K. Masuda and M. Kubota, *Yakugaku Zasshi*, 97, 1369, 1977
21. P.K. Agrawal, *Carbon-13 NMR Of Flavonoids*, Elsevier Science Publishing Company
22. 陳建志, 石斛指標成分之製備, 中醫藥年報第十三期第二冊, P11, (1994)
23. 徐鳳麟, 中藥指標成分之製備(一): 金銀花、大黃、澤瀉, 中醫藥年報第十二期第二冊, P359, (1993)
24. A.G. gonzalez, C.G. Francisco, R. Freire, R. Hernandez, J.A. Salazar and E. Suarez, *Phytochemistry*, 15, 344, 1976

表一. 86 年度指標成分之 HPLC 分析條件

編號	指標成分	移動相	波長 (nm)	flow rate (mL / min)
1	Honokiol	Acetonitrile:Water (60 : 40)	290	1
2	Magnolol	Acetonitrile:Water (60 : 40)	290	1
3	Schizandrin	Acetonitrile:Water (50 : 50)	252	1
4	Gomisin A	Acetonitrile:Water (50 : 50)	252	1
5	Paeoniflorin	Acetonitrile:Water (20 : 80)	230	1
6	Hesperidin	Acetonitrile:Water (20 : 80)	280	1
7	Narigin	Acetonitrile:Water (20 : 80)	280	1
8	Daidzein	Acetonitrile:Water (30 : 70)	254	1
9	Puerarin	Acetonitrile:Water (15 : 85)	254	1
10	Gentiopicroside	Acetonitrile:Water (15 : 85)	270	1
11	Phillygenin	Acetonitrile:Water (40 : 60)	235	1
12	Phillyrin	Acetonitrile:Water (30 : 70)	235	1
13	Evodiamine	Acetonitrile:Water (50 : 50)	270	1
14	Rutaecarpine	Acetonitrile:Water (60 : 40)	254	1
* 15	Astragaloside IV	Acetonitrile:Water (43 : 57)	203	1

*指標成分 Astragaloside 則以 HP 1047 A Refractive Index Detector 分析之

* comp.1~comp.14 所使用之 Column (a)Cosmosil 5C 18-AR,4.6×250 mm

(b)Nucleosil 10 μ m NH₂,4.6×250 mm

表二. 八十七年度指標成分之 HPLC 分析條件

編號	指標成分	移動相	波長 (nm)	flow rate (mL/min)
1	Geniposide	氯甲烷/水 (15 : 85)	240	1
2	Genipin-1-O-β-gentiobioside	a. 氯甲烷/0.1%磷酸 (25 : 75) b. 氯甲烷/水 (12 : 88)	254	1
3	Ginsenoside Rb1	氯甲烷/水 (30 : 70)	202	1
4	Ginsenoside Re	氯甲烷/水 (22 : 78)	202	1
5	Ginsenoside Rg1	氯甲烷/水 (23 : 77)	202	1
6	Osthole	氯甲烷/水 (65 : 35)	304	1
7	Saikosaponin a	氯甲烷/水 (40 : 60)	210	1
8	Saikosaponin c	氯甲烷/水 (35 : 65)	210	1
9	scopoletin	氯甲烷/水 (20 : 80)	350	1
10	Atractylenolid III	氯甲烷/水 (55 : 45)	230	1
11	Arctiin	甲醇/水 (30 : 70)	230	1
12	Arctigenin	氯甲烷/水 (45 : 55)	230	1
13	Sinomenine	氯甲烷/水/乙二胺 (1 : 2 : 0.125) 0.1%磷酸使PH=7.2	260	1
14	Ferulic acid	氯甲烷/0.1%磷酸 (20 : 80)	320	1
15	Paeonol	氯甲烷/水 (55 : 45)	273	1
16	β-Eudesmol	氯甲烷/水 (90 : 10)	210	1
17	Kaempferol-3-rutinoside	氯甲烷/0.1%磷酸 (20 : 80)	260	1
18	Denbinobin	氯甲烷/水 (55 : 45)	250	1
19	Catechin	甲醇/0.1%磷酸 (25:75)	280	1
20	4-(4'-hydroxy phenyl)-2-butanone- 4'-O-β-0-glucopyranoside	氯甲烷/水 (15 : 85)	210	1

* comp.1~comp.2 所使用之 column

a. Cosmosil, 5C 18-AR, 4.6×250 mm

b. Nucleosil, 10μm NH₂, 4.6×250 mm

* comp.3~comp.20 所使用之 column

a. Cosmosil 5C, 18-AR, 4.6×250 mm

b. Inertsil ODS-2, 5μm 4.6×250 mm

