



## 市售減脂茶中 Sennosides A、B 含量測定

林雅姿 黃成禹 溫國慶\*

行政院衛生署藥物食品檢驗局

### 摘 要

本研究利用高效液相層析儀，分析番瀉葉、番瀉莢果及市售減脂茶中 sennoside A 及 B 之含量，採用 C<sub>18</sub> 逆相層析管柱，移動相為乙腈~0.1% 醋酸溶液，利用線性梯度沖提，檢測波長為 270 nm；得到良好分析結果。Sennoside A 及 B 二成分之線性迴歸方程式及相關係數 (r) 分別為：sennoside A (濃度 7.52 ~ 37.60 μg/ml),  $Y=32.07032X - 0.1098656$  (r=0.9998)；sennoside B (濃度 8.32 ~ 49.92 μg/ml),  $Y= 28.13735X + 0.2604257$  (r=0.9999)，均呈現良好線性關係。添加回收率試驗結果，番瀉葉之 sennoside A 為 100.7 ± 0.90%，sennoside B 為 102.3 ± 1.31%；番瀉莢果之 sennoside A 為 106.6 ± 0.50%，sennoside B 為 102.5 ± 2.17%，顯示準確性佳。同日內及異日間試驗之相對標準偏差，分別為 0.24 ~ 1.72% 及 0.23 ~ 1.71%，顯示高效液相層析法用於 sennoside A 及 B 之分析其結果良好。

利用上述高效液相層析法定量番瀉葉及番瀉莢果內 sennoside A 及 B 的含量，結果番瀉葉中的 sennoside A 及 B 含量分別為 0.64、1.57%，番瀉莢果中的 sennoside A 及 B 的含量分別為 1.46、2.30%。依此法分析不同七種市售減脂茶中 sennoside A 及 B 的含量，結果 sennoside A 之含量則在 0.10 ~ 0.19% 之間；sennoside B 之含量在 0.16 ~ 0.28% 之間。

**關鍵詞：**番瀉葉，番瀉莢果，高效液相層析，*Cassia angustifolia*，Sennoside A，Sennoside B。

### 前 言

番瀉葉(*Sennae Folium*)，別名弟兄草，係豆科(*Leguminosae*)植物狹葉番瀉樹 *Cassia angustifolia* Vahl 的乾燥小葉，番瀉葉樹莢果內含種子 4 ~ 7 枚。本品原產國外，清代以後引入國內。番瀉葉之名，見於 1935 年出版的「飲片新參」及「中國藥學大辭典」中，較早期的著作也稱本品為旃那葉或瀉葉，故中醫應用已有數十年歷史，其性寒、味甘苦。效用為治食物積滿，胸腹漲滿，大便不通，為有效的瀉下劑，對習慣性及臨時性便秘均有功效<sup>(1,2,3)</sup>。另外亦具有抗菌、抗生及箭毒樣作用<sup>(2)</sup>。本品含有 sennoside A, B, C, D 及 1,8-dihydroxyanthraquinone 衍生物如 rhein、chrysophanol、

aloe-emodin 及其配糖體等成分<sup>(4)</sup>，其中以 sennoside A 及 B(結構式如圖 1.) 為主<sup>(3)</sup>。

近年來，由於國人的飲食富足及趨於精緻化，然缺乏運動，使得一些肥胖及一些想維持美好身材者便開始尋求瘦身的管道，於是乎市面上許許多多的減脂茶紛紛出籠，吸引消費者的注意，多數的消費者飲用了這些減脂茶後，均有軟便或輕微的瀉下作用，而向當地衛生局申訴送本局檢驗。據以往檢驗類似檢體常檢出參加番瀉葉、番瀉莢果之情形。

番瀉葉載於藥典<sup>(5~7)</sup>，列為藥品管理，番瀉莢果亦載於英國及美國藥典。故本局例行性檢驗是類減脂茶僅止於定性確認，為了進一步了解此類減脂茶中添加番瀉葉、番瀉莢果量，本實驗利用高效液相層析儀個別定量番瀉葉、

Journal of Food and Drug Analysis. 1998. 6(1)

番瀉莢果及送驗之減脂茶中 sennoside A 及 B 的含量。

早期 sennoside A 及 B 的定量是以 paper chromatography、low-voltage 或 high-voltage paper electrophoresis 及 TLC 來檢測<sup>(4)</sup>。一直到了 1976 年 S. I. Hayashi 等人才利用 HPLC 來定量此成分<sup>(4)</sup>。由此些研究報告結果顯示不同基源之番瀉葉、番瀉莢果所含 sennoside A 及 B 的量即有顯著之差異<sup>(4,8)</sup>。許順吉教授等人曾以 HPLC 來定量大承氣湯、大柴胡湯....等方劑中大黃藥材內所含 sennoside A 的含量<sup>(9)</sup>。本實驗試以此分析條件來嘗試分析定量各種不同市售減脂茶中 sennoside A 及 B 的含量。為使 sennoside A 及 B 能完全分離不受其它成分之干擾，故將定量分析條件稍作修飾，可適用於本實驗之七種不同市售減脂茶定量分析用。

## 材料與方法

### 一、材料

番瀉葉及莢果藥材由科達製藥廠所提供，番瀉葉及番瀉莢果經確認其基源為 *Cassia angustifolia* Vahl。不同 7 種市售減脂茶檢體則分別於 85 年 1 月～85 年 6 月間送驗。

### 二、儀器

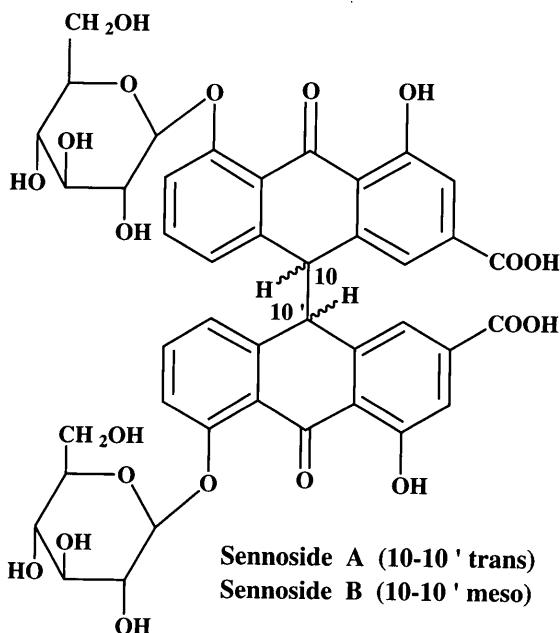


Figure 1. Structures of sennosides A and B.

本實驗中之高效液相層析儀使用 Hitachi L-6200 intelligent pump，連接 Shimadzu sil 9A auto injector 及 L-3000 Photo Diode Array Detector。分析條件如下：層析管 Inertsil ODS-2 (5 $\mu$ m, 250  $\times$  4.6 mm I.D.)；流速為 0.7 ml/min；檢測波長為 270 nm；移動相為乙腈～1% 醋酸溶液，採以線性梯度進行沖提，其比例開始時為 14:86，30 分鐘時為 32:68。

### 三、標準品及溶媒

Sennoside A 購自日本 Nacalai 公司，sennoside B 購自法國 Genay 公司。內部標準品 sulfamethoxypridazine 購自 Sigma 公司 (St. Louis, USA; product number: S-7257)。乙腈係採 HPLC 級，購自 LAB-SCAN 公司 (Dublin, Ireland)，醋酸分析級。

### 四、實驗方法

#### (一)標準溶液之配製

精確稱取對照標準品 sennoside A、sennoside B 及內部標準品 sulfamethoxypridazine 適量，以 70% 甲醇稀釋調配成一系列濃度之溶液。Sennoside A 之濃度依序為 7.52，15.04，22.56，30.08 及 37.60  $\mu$ g/ml；sennoside B 之濃度依序為 8.32，16.64，24.96，33.28 及 49.92

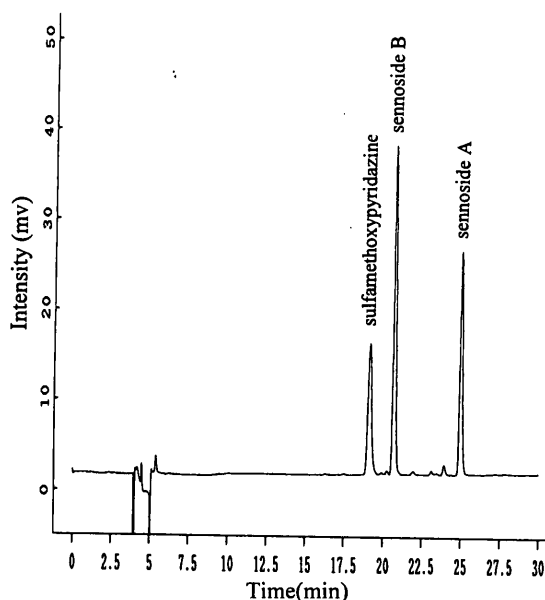


Figure 2. Chromatographic separation of sennosides A and B. Sulfamethoxypridazine was used as internal standard.

**Table 1.** Intraday and interday assay variations of sennosides A and B

Marker substance	Concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	Mean $\pm$ S.D. <sup>a</sup> (R.S.D.,%)	
		intraday	interday
Sennoside A	7.52	0.2351 $\pm$ 0.0030(1.29)	0.2340 $\pm$ 0.0052(2.24)
	22.56	0.6922 $\pm$ 0.0034(0.49)	0.6961 $\pm$ 0.0032(0.46)
	37.60	1.1605 $\pm$ 0.0079(0.68)	1.1628 $\pm$ 0.0088(0.75)
Sennoside B	8.32	0.2825 $\pm$ 0.0040(1.41)	0.2799 $\pm$ 0.0059(2.10)
	24.96	0.8516 $\pm$ 0.0058(0.68)	0.8420 $\pm$ 0.0068(0.81)
	49.92	1.7172 $\pm$ 0.0068(0.39)	1.7103 $\pm$ 0.0127(0.74)

<sup>a</sup>n=6.

**Table 2.** Recoveries of sennosides A and B in senna leaves

Marker Substance	Amount added ( $\mu\text{g/ml}$ )	Amount measured( $\mu\text{g/ml}$ )	Recovery (%)	Mean $\pm$ S.D. <sup>a</sup> (%)	R.S.D. (%)
Sennoside A	94	95.09	101.2	100.7 $\pm$ 0.90	0.89
	141	142.98	101.4		
	188	186.78	99.4		
Sennoside B	62.4	64.90	104.0	102.3 $\pm$ 1.31	1.28
	104	106.20	102.1		
	156	157.26	100.8		

<sup>a</sup>n=3.

**Table 3.** Recoveries of sennosides A and B in senna pods

Marker Substance	Amount added ( $\mu\text{g/ml}$ )	Amount measured( $\mu\text{g/ml}$ )	Recovery (%)	Mean $\pm$ S.D. <sup>a</sup> (%)	R.S.D. (%)
Sennoside A	94	100.06	106.5	106.6 $\pm$ 0.50	0.47
	141	149.64	106.1		
	188	201.80	107.3		
Sennoside B	62.4	65.65	105.2	102.5 $\pm$ 2.17	2.11
	104	103.92	99.9		
	156	159.66	102.3		

<sup>a</sup>n=3.

$\mu\text{g/ml}$ ；各溶液之內部標準品 sulfamethoxy- pyridazine 之濃度為 8.56  $\mu\text{g/ml}$ 。

(二)檢量線之製作

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

(三)檢液之配製

1. 番瀉葉及番瀉莢果

分別取番瀉葉及番瀉莢果(約 1 ~ 2g)，精確稱定，加 70% 甲醇 20 ml，於超音波震盪萃取一小時，重複萃取四次，過濾，合併濾液以 70% 甲醇定容至 100 ml。取此液 2.5 ml 並加入內部標準品 sulfamethoxypyridazine 溶液，再以 70% 甲醇定容至 25 ml 為檢液，使內部標準品之

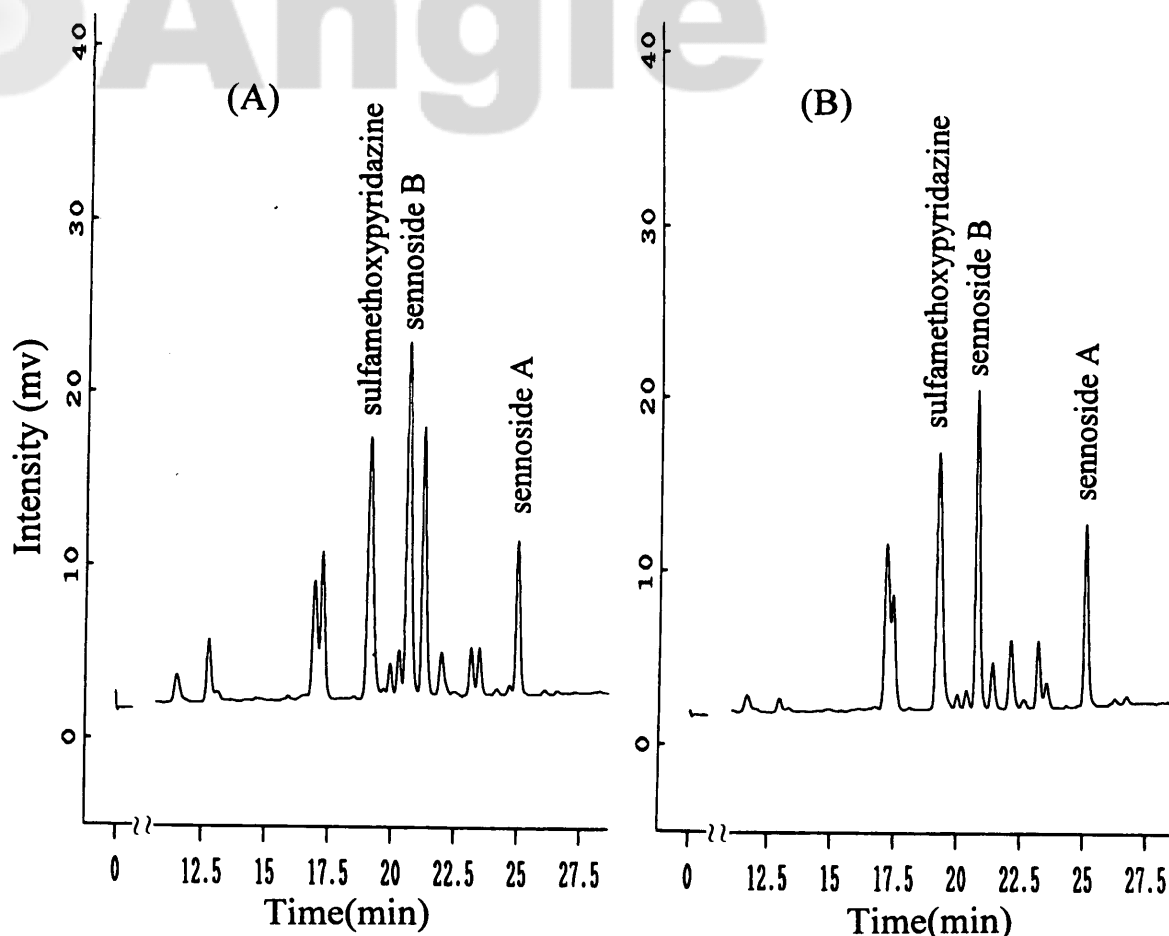


Figure 3. HPLC chromatograms of sennosides A and B of senna leaves(A) and senna pods(B). Sulfamethoxyypyridazine was used as internal standard.

濃度為 8.56  $\mu\text{g/ml}$ 。

#### 2. 市售減脂茶檢體

取市售減脂茶檢體一包(約 3 ~ 4g)，精確稱定，加 70% 甲醇 20 ml，於超音波震盪萃取一小時，重複萃取四次，過濾，合併濾液以 70% 甲醇定容至 25 ml。取此液 2.5 ml 並加入內部標準品 sulfamethoxyypyridazine 溶液，再以 70% 甲醇定容至 25 ml 為檢液，使內部標準品之濃度為 8.56  $\mu\text{g/ml}$ 。

#### (四) 同日內及異日間試驗

於對照標準品檢量線範圍內，分別選擇含 sennoside A 7.52、22.56 及 37.60  $\mu\text{g/ml}$  和 sennoside B 8.32、24.96 及 49.92  $\mu\text{g/ml}$  之三組不同濃度對照標準品溶液，於同一日及不同的六天重複注入高效液相層析儀分析各六次，將所得之數據(peak area ratio)計算相對標準偏差。

#### (五) 添加回收率試驗

取已知 sennoside A 及 B 成分含量之番瀉葉與番瀉莢果檢液三份，分別加入已知不同量之對照標準品溶液，使其每份檢液中添加之濃度依序為 sennoside A：94.0、141.0 及 188.0  $\mu\text{g/ml}$ ；sennoside B：62.4、104.0 及 156.0  $\mu\text{g/ml}$ ；以高效液相層析儀分析，求其添加回收率。

### 結果與討論

#### 一、定量方法之探討

本研究建立了一個快速、精確的高效液相層析方法，以分析番瀉葉、番瀉莢果及各種市售減脂茶檢體中 sennoside A 及 B 的含量。此層析法採用逆相層析管，移動相為採用乙腈與含

**Table 4.** Contents of sennosides A and B in senna leaves and pods

Sample	Content	
	sennoside A (mean ± S.D. <sup>a</sup> ,%)	sennoside B (mean ± S.D. <sup>a</sup> ,%)
Leaves	0.64 ± 0.052	1.57 ± 0.090
Pods	1.46 ± 0.164	2.30 ± 0.128

<sup>a</sup>n=3.

**Table 5.** Contents of sennosides A and B in diet tea samples

Sample	Content	
	sennoside A (mean ± S.D. <sup>a</sup> ,%)	sennoside B (mean ± S.D. <sup>a</sup> ,%)
1	0.18 ± 0.010 <sup>b</sup>	0.28 ± 0.048 <sup>b</sup>
2	0.13 ± 0.025	0.21 ± 0.022
3	0.16 ± 0.024 <sup>b</sup>	0.27 ± 0.036 <sup>b</sup>
4	0.12 ± 0.012	0.20 ± 0.008
5	0.14 ± 0.015	0.21 ± 0.017
6	0.10 ± 0.028	0.16 ± 0.012
7	0.19 ± 0.020 <sup>b</sup>	0.25 ± 0.016 <sup>b</sup>
Range	0.10 ~ 0.19	0.16 ~ 0.28
Mean ± S.D.	0.15 ± 0.030	0.23 ± 0.040
R.S.D.(%)	20.70	17.54

<sup>a</sup>n=3.

<sup>b</sup>content larger than mean.

1% 醋酸水溶液，以線性梯度沖提方式分離；檢測波長設定為 270 nm，移動相採用之醋酸不會影響成分之分析，分析所得的 sennoside A 及 B 成分之波峰顯著，其高效液相層析圖譜如圖 2. 所示，sennoside A 及 B 之滯留時間分別為 24.9 及 20.5 分鐘。內部標準品 sulfamethoxypyridazine 滯留時間為 19.0 分鐘，番瀉葉及莢果藥材之圖譜於此處並無干擾，故為一可接受的內部標準品。

以本方法分析 sennoside A 及 B 對照標準品，其線性迴歸方程式及相關係數(r)分別為：sennoside A,  $Y=32.07046X-0.1098656$  ( $r=0.9998$ )；sennoside B,  $Y=28.13735X+0.2604257$  ( $r=0.9999$ )，其結果顯示 sennoside A 在濃度 7.52 ~ 37.60 μg/ml 範圍內，sennoside B 在濃度 8.32 ~ 49.92 μg/ml 範圍內均呈良好線性關係。二種成分之同日內及異日間再現性試驗

結果如表 1. 所示其同日內之相對標準偏差為 0.23 ~ 1.72%，異日間為 0.23 ~ 1.71%，顯示此高效液相層析方法用於 sennoside A 及 B 成分之分析結果良好。添加回收率的試驗結果(表 2,3) 顯示於番瀉葉及番瀉莢果中之 sennoside A 及 B 的回收率均在 100 ± 7% 之內，其中番瀉葉 sennoside A 之回收率為 100.7 ± 0.90%，sennoside B 之回收率為 102.3 ± 1.31%；番瀉莢果 sennoside A 之回收率為 106.6 ± 0.50%，sennoside B 之回收率為 102.5 ± 2.17%，此二成分之添加回收率之相對標準偏差範圍介於 0.47 ~ 2.11% 之間，顯示準確性佳。

## 二、番瀉葉、番瀉莢果及市售減脂茶中 sennoside A 及 B 成分之含量

將番瀉葉、番瀉莢果，依前處理步驟處理後，再以建立之高效液相層析法定量分析其所含 sennoside A 及 B 之含量，其層析圖譜如圖 3. 所示。番瀉葉中所含的 sennoside A 及 B 含量分別為 0.64、1.57%(如表 4. 所示)，而此與日本藥局方所載番瀉葉(*Cassia angustifolia* Vahl.) 中 sennoside A 及 B 之含量 2 ~ 3%<sup>(5)</sup> 相當，番瀉莢果中所含的 sennoside A 及 B 分別為 1.46 及 2.30%(如表 4. 所示)，高於葉之含量。依此法分析送本局檢驗之不同七種市售減脂茶中 sennoside A 及 B 的含量，其定量分析結果如表 5. 所示，sennoside A 之含量，以檢體 7 含 0.19% 為最高，檢體 6 含 0.10% 為最低，平均為 0.15%；sennoside B 之含量，以檢體 1 含 0.28% 為最高，檢體 6 含 0.16% 為最低，平均為 0.23%。由表 5. 顯示市售減脂茶七件檢體其 sennoside A/sennoside B 含量比介於 0.59 ~ 0.76，上述此與番瀉莢果 sennoside A 及 B 含量之比 0.63(1.46%/2.30%) 相當。檢體之外觀經確認含番瀉莢果，兩者一致。依上述含量換算市售減脂茶中含番瀉莢果約為 6.9 ~ 12.2% 之間。

一般使用番瀉葉為瀉下劑，其劑量為 0.25 ~ 0.5g<sup>(5)</sup>，以番瀉葉中 sennoside A 及 B 之含量為 2 ~ 3%，則相當於含有 5 ~ 15 mg 的 sennoside A 及 B。上述市售減脂茶中，每包所含 sennoside A 及 B 之總量則介於 9.8 ~ 17.3 mg 之間，與常用來作為瀉下劑時之劑量極為相近。

## 參考文獻

1. 中國藥材學。1987。714-717 頁。啟業書

Journal of Food and Drug Analysis. 1998. 6(1)

- 局。台北。
2. 中藥大辭典(第四冊)。218-221頁。昭人出版社。
  3. Muffat, F., Bernard, P. and Sabot J. F., 1986. Determination of sennosides A and B in senna extracts by high performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 369: 261-264.
  4. Hayashi, S. I., Yoshida, A., Tanaka, H., Mitani, Y. and Yoshizawa, K. 1980. Determination of sennosides in senna and formulations by high performance liquid chromatography. *Chem. Pharm. Bull.* 28: 406-412.
  5. 日本藥局方解說書。第二部。1986。551-556頁。日本。
  6. British Pharmacopoeia Volumn I. 1993. p.p. 590-593.
  7. The United States Pharmacopoeia XXIII. 1995. p.p. 1407-1408.
  8. Duez, P., Vanhaelen, M., Vanhaelen-Fastre, R., Hanocq, M. and Molle, L. 1984. Comparison between high-performance thin-layer chromatography-fluorometry and high performance liquid chromatography for the determination of sennosides A and B in senna (*Cassia* spp.) pods and leaves. *J. Chromatogr.* 303: 391-395.
  9. 中藥檢驗方法專輯(九)。1996。中藥濃縮製劑指標成分定量方法。320-322頁。行政院衛生署藥物食品檢驗局出版。台北。

### 誌 謝

本研究承張憲昌博士協助鑑定藥材，謹申謝忱。

## Determination of Sennosides A and B in Diet Tea by HPLC

YAA-TZY LIN, CHENG-YEU HUANG AND KUO-CHING WEN\*

*National Laboratories of Foods and Drugs, Department of Health, Executive Yuan  
161-2, Kuen Yang Street, Nankang, Taipei, Taiwan, R.O.C*

### ABSTRACT

**A rapid high performance liquid chromatographic method was developed for determination of sennosides A and B in senna leaves, pods and diet tea. The determination was carried out by using a gradient elution with acetonitrile and 1% acetic acid on an Inertsil ODS-2 column.**

**The linear calibration ranges of sennosides A and B were 7.52~37.60 µg/ml ( $r=0.9998$ ) and 8.32~49.92 µg/ml ( $r=0.9999$ ), respectively. The recoveries of sennosides A and B were almost quantitative from the senna leaves and pods, respectively. The relative standard deviations of sennosides A and B for intraday and interday analyses were 0.24~1.72% and 0.23~1.71%, respectively. The contents of sennosides A and B in leaves and pods of *Cassia angustifolia* Vahl have been determined and the results were as follows: sennoside A 0.64, 1.46% and sennoside B 1.57, 2.30%. The contents of sennosides A and B in seven diet tea samples have been determined and the results were as follows: sennoside A 0.10~0.19% and sennoside B 0.16~0.28%.**

**Key words :** senna leaves, senna pods, HPLC, *Cassia angustifolia* Vahl, sennoside A, sennoside B.