

秦艽

(GENTIANAE MACROPHYLLAE RADIX)

秦艽 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
秦艽 HPLC	10
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
秦艽 TLC	30
一、方法.....	30
二、萃法選擇及濃度測試.....	31
三、溶媒系統選擇.....	32
四、觀察方式選擇.....	35
五、十批秦艽藥材樣品檢測.....	36

秦艽 MI

一、藥材採購及鑑定

收集 12 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粗莖秦艽及麻花秦艽的乾燥根。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：秦艽

生藥名：GENTIANAE MACROPHYLLAE RADIX

英文名：Largeleaf Gentian Root

基原：本品為龍膽科 Gentianaceae 植物粗莖秦艽 *Gentiana crassicaulis* Duthie ex Burkill 及麻花秦艽 *Gentiana straminea* Maxim 之乾燥根。

採收加工：春秋二季採挖，除去泥沙，曬軟，堆置發汗至表面呈紅黃色或灰黃色時，攤開曬乾，或不經發汗直接曬乾。

藥材性狀：(粗莖秦艽)本品已斜切成片。外表皮黃棕色或灰黃色，粗糙，有扭曲縱紋。有的可見上部殘存葉基，切面皮部黃色或棕黃色，木部黃白色，有的中心呈枯朽狀。氣特異，味苦、澀。

(麻花秦艽) 本品已斜切成片，直徑 1~3 cm。外表皮棕褐色，粗糙，有扭曲縱紋或網狀孔紋，有些外表可見其為多數分枝連合而成。切面皮部棕黃色至棕褐色，木部棕黃色至黃白色，有些中心枯朽或有空隙。氣特異，味苦、澀。

生長分佈：多年生草本植物，喜涼爽、濕潤氣候，宜於土壤深厚、肥沃的壤土栽培。花期 7~8 月，果期 9~10 月，生於高山草地或山坡疏生雜木林緣。粗莖秦艽主產於中國的西南地區；麻花秦艽主產於中國四川、甘肅、青海及西藏。

三、藥材組織顯微鑑別(圖 2)

粗莖秦艽：

1. 外周皮與內周皮皆具木栓細胞 1 列和栓內層數列 (粗根中較明顯，於細根中有時可見)。
2. 韌皮部細胞類圓形，外側細胞較大，有時可見細胞間隙，內側細胞排列緊密，有篩管群散在。
3. 形成層明顯，由 3~4 列排列緊密的扁平薄壁細胞組成。
4. 木質部導管散生或數個成群。
5. 薄壁細胞中可見油滴，偶見草酸鈣棒晶。
6. 細根中可見皮層薄壁細胞數列，類橢圓形，外側細胞較大，細胞間隙明顯，但多無內外周皮兩列木栓層。

麻花秦艽：

1. 外周皮與內周皮皆具木栓細胞 1 列和栓內層數列。
2. 韌皮部細胞類圓形，外側細胞較大，內側細胞較小且排列緊密。
3. 形成層明顯，由 3~4 列排列緊密的扁平薄壁細胞組成，呈類長方形、紡錘形。
4. 木質部通常偏於中心一側，導管散生或數個成群，導管直徑 11~43 μm 。
5. 薄壁細胞中可見油滴，偶見草酸鈣棒晶。
6. 細根中可見皮層薄壁細胞數列，類橢圓形，外側細胞較大，細胞間隙明顯，但多無內外周皮兩列木栓層。

市售商品中，根的內皮層及其外組織多已頹廢剝落，僅在一些細根的表面，可見部分皮層及內皮層殘存。細根於藥材中所佔比例不高。市售麻花秦艽之組織多皺縮。

秦艽之內外周皮兩層木栓細胞的形成與否，與其生長分化程度有關，因此顯微鑑別觀察到的周皮生長狀況與層數不盡相同。

四、藥材粉末顯微鑑別 (圖 3)

粗莖秦艽：

1. 本品粉末淡黃棕色，味苦澀。
2. 草酸鈣棒晶散在於薄壁細胞中，長 4~10 μm ，偏光顯微鏡下成白色。
3. 木栓細胞呈長方形或不規則形，每個細胞被不均勻的分為 2~16 個小細胞，平周壁有微細紋理，壁薄。
4. 導管以螺紋和網紋為主，直徑 10~46 μm 。

麻花秦艽：

1. 本品粉末棕褐色。
2. 木栓細胞表面觀長梭形、類方形、類長方形，長至 200 μm ，直徑 37~85 μm ，壁薄，每個細胞皆會隔成數個小細胞。其中有的細胞橫隔成 2~8 個小細胞；有的細胞則先縱隔成 2 個小細胞，小細胞再橫隔為 2~5 個。
3. 內皮層細胞淡黃綠色或幾無色，長條形，兩端平截或稍傾斜。
4. 導管以螺紋導管為主，網紋少見，直徑 11~43 μm 。
5. 厚壁網紋細胞梭形、類三角形或長條形，末端稍大、鈍圓或平截，有的一端呈側鉤狀，長 20~240 μm ，直徑 20~65 μm ，壁稍厚，木質化，網孔長裂縫狀，疏密不一。
6. 草酸鈣棒晶細小，散在於薄壁細胞中，長 3~10 μm ，偏光顯微鏡下成白色。



圖 1A 粗莖秦艽藥材圖



圖 1B 麻花秦艽藥材飲片圖

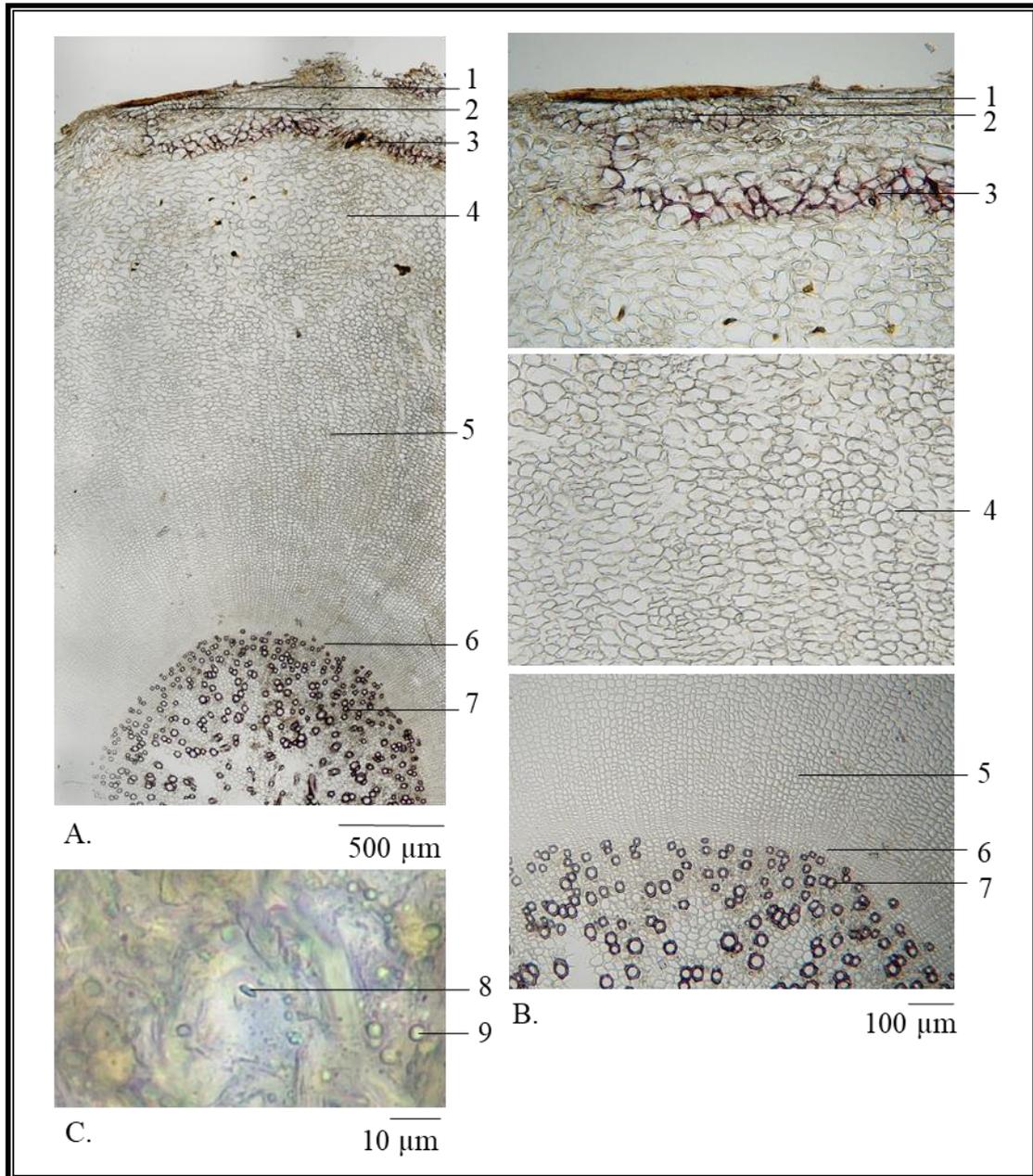


圖 2A 粗莖秦艽根橫切面顯微特徵圖

A.橫切面 B.橫切面放大圖 C.油滴及草酸鈣棒晶

1.內皮層 2.外周皮 3.內周皮 4.韌皮部 5.篩管群 6.形成層 7.木質部

8.草酸鈣棒晶 9.油滴

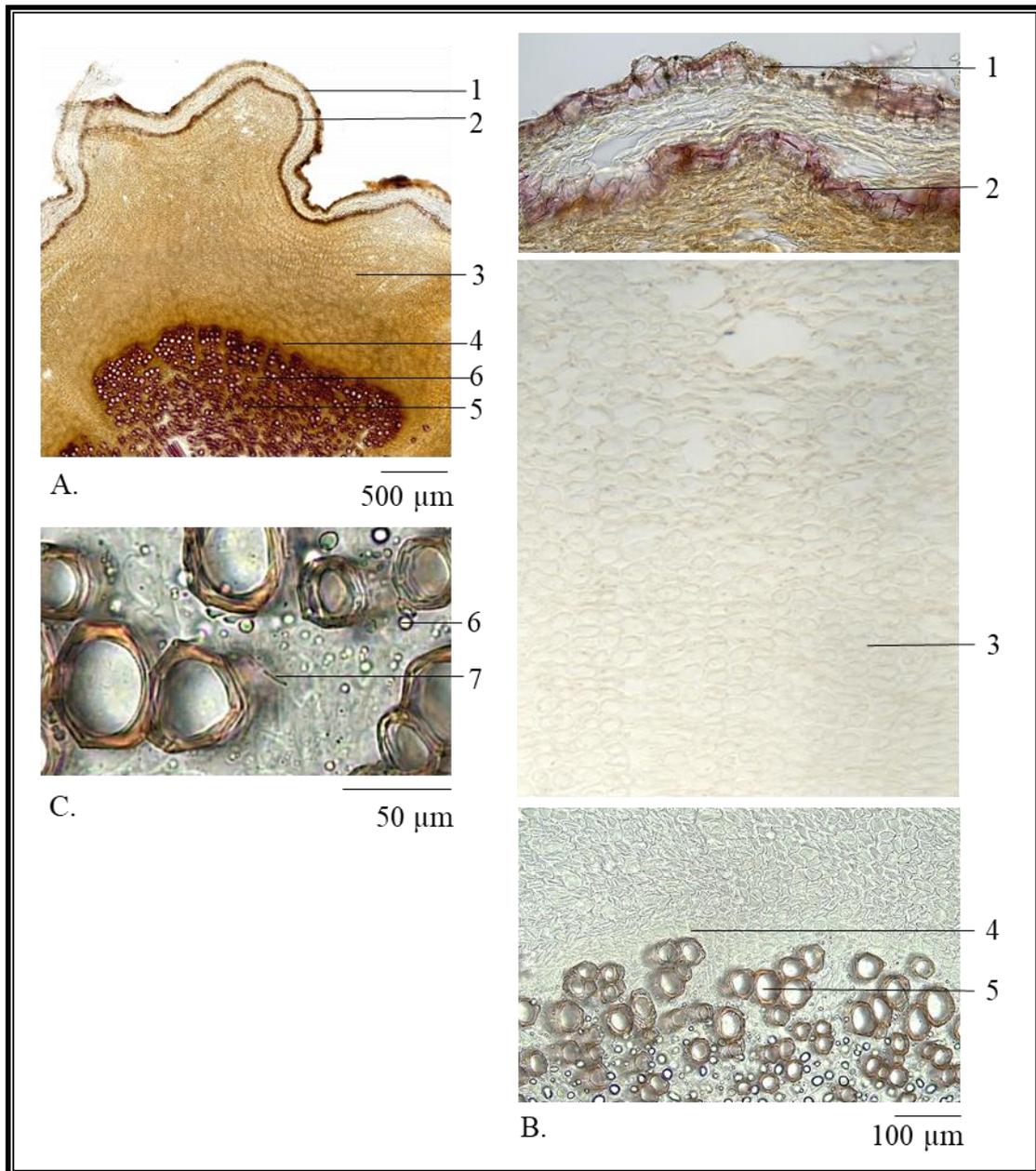


圖 2B 麻花秦艽根橫切面顯微特徵圖

A.橫切面 B.橫切面放大圖 C.油滴及草酸鈣棒晶

1.外周皮 2.內周皮 3.韌皮部 4.形成層 5.木質部 6.油滴 7.草酸鈣棒晶

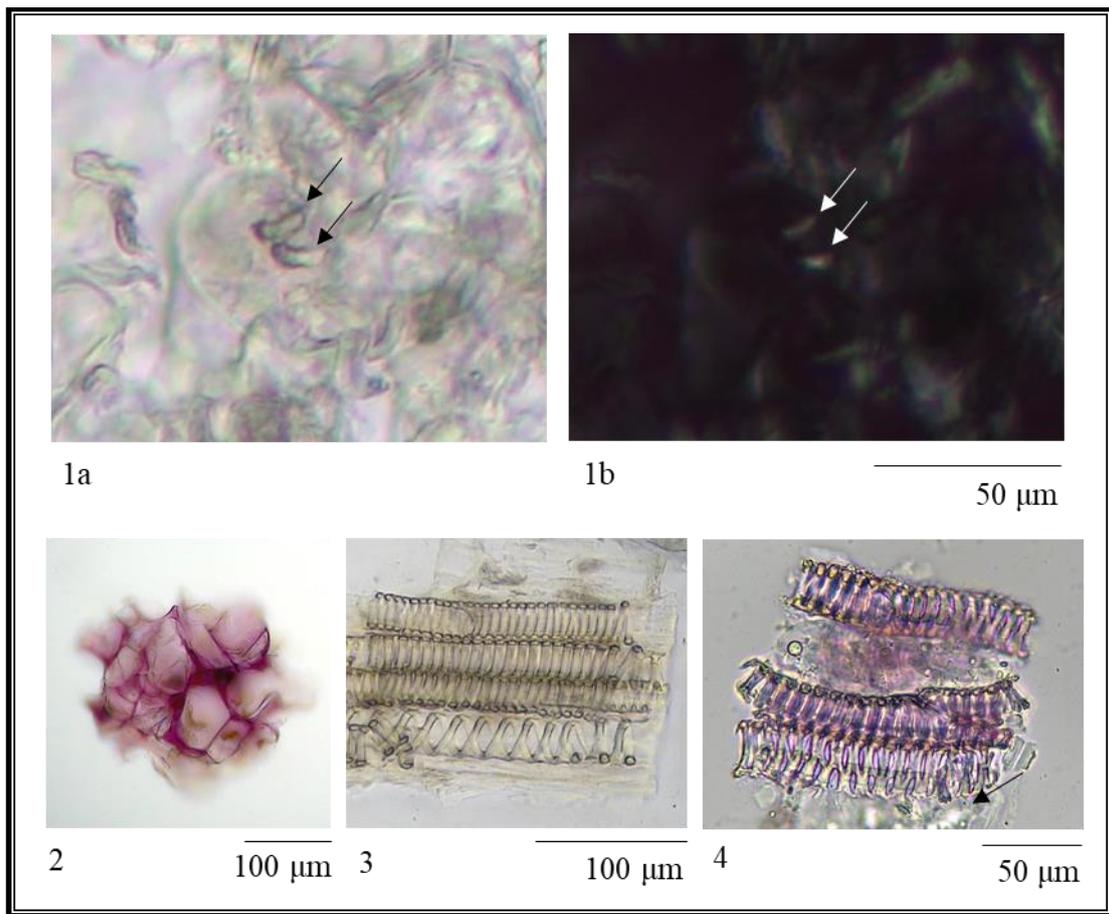


圖 3A 粗莖秦艽粉末顯微特徵圖

a. 光學顯微鏡下特徵 b. 偏光顯微鏡下特徵

1. 草酸鈣棒晶 2. 木栓細胞 3. 螺紋導管 4. 網紋導管

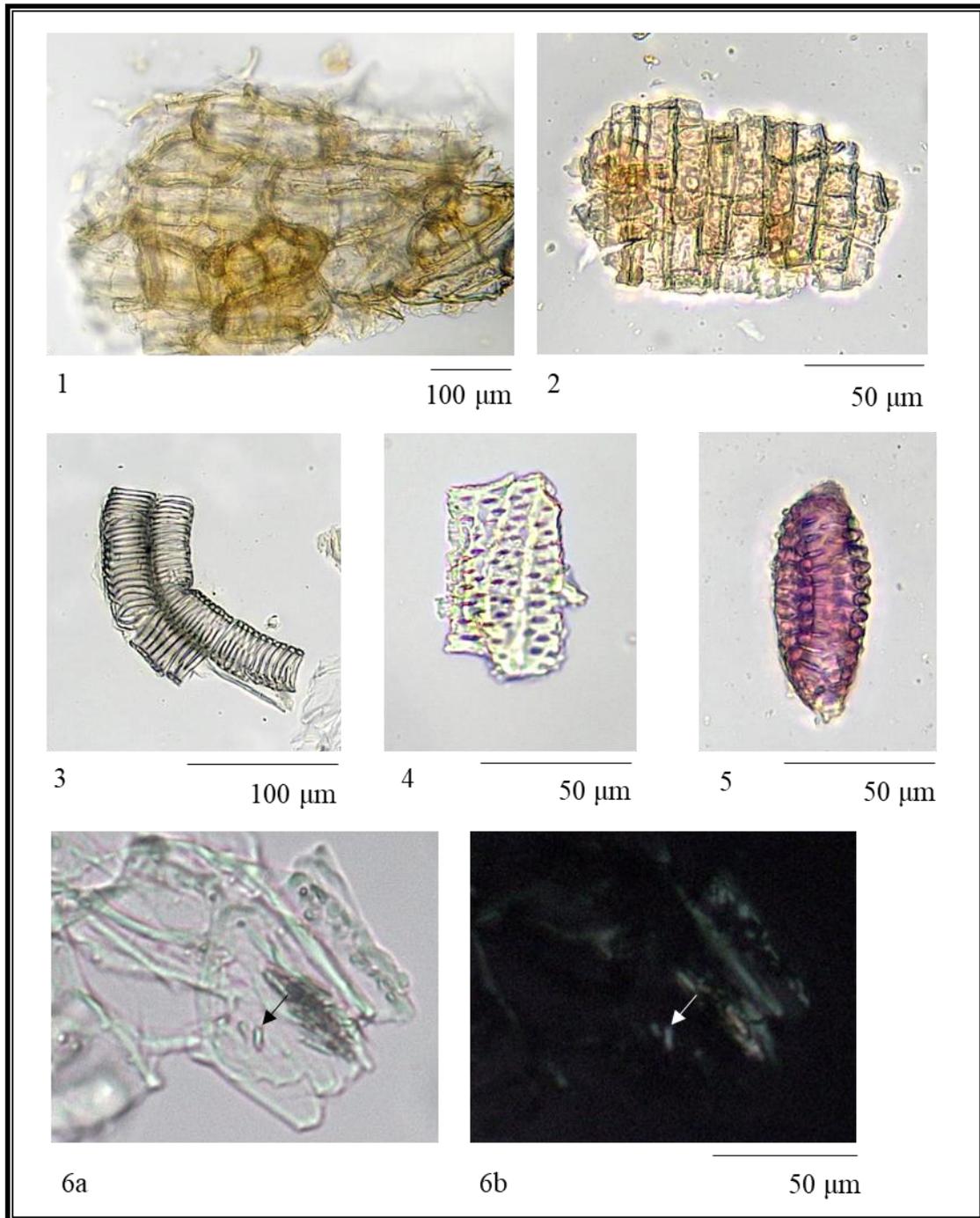


圖 3B 麻花秦艽粉末顯微特徵圖

a. 光學顯微鏡下特徵 b. 偏光顯微鏡下特徵

1. 木栓細胞 2. 內皮層細胞 3. 螺紋導管 4. 網紋導管 5. 厚壁網紋細胞

6. 薄壁細胞與草酸鈣棒晶

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。263~265 頁。
2. 行政院衛生署中醫藥委員會(1999)。中藥材品質管制：組織型態學鑑定。臺北市：行政院衛生署中醫藥委員。301~302 頁。
3. 中藥栽培法編輯委員(主編)(1978)。中藥栽培法。啓業書局。268 頁。
4. 中藥鑑別手冊編輯委員(主編)(1985)。中藥鑑別手冊。啓業書局。997~1004 頁。
5. 顏焜熒(1980)。原色常用中藥材圖鑑。臺北：南天書局有限公司。43~44 頁。
6. 徐雅慧、陳佩儀、陳文惠、劉芳淑、羅吉方、林哲輝(2008)。市售秦艽藥材之鑑別。藥物食品檢驗調查研究年報. 26：137-152 2008。
7. 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(2013)。香港中藥材標準第六冊。香港：香港特別行政區政府衛生署中醫藥事務部。435~448 頁。
8. 國家藥典委員會(2020)。中華人民共和國藥典 2020 年版一部。北京：中國醫藥科技出版社。282 頁。
9. 陳士林、林余霖(主編)(2013)。中藥飲片標準圖鑑。福州：海峽出版發行集團·福建科學技術出版社。490~491 頁。
10. 趙中振、陳虎彪(主編)(2016)。中藥顯微鑑定圖典。福建科學技術出版社。162~163 頁。
11. 范崔生(主編)(1995)。中藥採收鑑別應用全書。江西科學技術出版社。120~121 頁。
12. 樓之岑、秦波(主編)(1996)。常用中藥材品種整理和質量研究(北方編)第三冊。北京醫科大學中國協和醫科大學聯合出版社。373~433 頁。
13. 肖培根(主編)(2002)。新編中藥志第一卷。北京：化學工業出版社。751~760 頁。
14. 任仁安(主編)(1986)。中藥鑑定學。上海科學技術出版社。85~87 頁。
15. 張繼、陳德昌、林惠蓉、陸惠文(主編)。中國中藥材真偽鑑別圖典(常用根及根莖藥材分冊)。廣東科技出版社。189~190 頁。
16. 楊燕梅、林麗、王振恒、馬曉輝、朱田田、晉玲(2015)。秦艽組六種藥用植物根的型態組織比較研究。中藥材 Journal of Medicinal Materials 第 38 卷第 9 期 2015 年 9 月。DOI:10.13863/j. issn1001-4454.2015.09.013。

秦艽 HPLC

一、材料

購自於臺灣各地中藥店秦艽藥材共 10 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Agilent 1100 series，包含 Degasser G1379A、QuatPump G1311A、Sampler G1329B、DAD G1315B；層析管柱 COSMOSIL 5C₁₈-AR-II Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)。

(二) UPLC 儀器及層析管柱

Agilent 1290 series，包含 Degasser G1330B、QuatPump G4220A、Sampler G4226A、DAD G4212A、Column oven G1316C；層析管柱 Agilent Poroshell 120 EC-C18 Column (100 × 3.0 mm, 2.7 μm)。

三、實驗藥品及試劑來源

(一) 試劑

甲醇(99.9%)購自於 Mallinckrodt Baker Inc.；乙醇(95%)購自於台糖公司；磷酸(85%)購自於 Merck。

(二) 標準品

標準品馬錢子苷酸(Loganic acid)和龍膽苦苷(Gentiopicrin)購自於普思生物科技股份有限公司，純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取溶媒評估

取本品粉末 7 份，每份準確稱定 0.25 g，置 50 mL 離心管中，準確加入甲醇、75%甲醇、50%甲醇、乙醇、75%乙醇、50%乙醇和水各 10 mL，超音波振盪處理(功率 300W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，取上清液過濾(syringe filter, PTFE 0.45 μm)，即得。每針 10 μL 注入 HPLC，以所測得之標準品馬錢子苷酸及龍膽苦苷最大波峰面積為最佳秦艽藥材萃取溶媒。

(二) 最佳萃取次數評估

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 0.25 g，置 50 mL 離心管中，準確加入 75%甲醇 10 mL，超音波振盪處理(功率 300W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，取上清液過濾(syringe filter, PTFE 0.45 μm)，即得。每針 10 μL 注入 HPLC，殘渣部分重複上述方法多次萃取、進樣，直到指標成分被萃取完全，並選出最佳萃取次數。

(三) 對照標準品溶液

1. 準確稱取標準品馬錢子苷酸 1.0 mg，加 1 mL 甲醇製成每 1 mL 含馬錢子苷酸 1000 μg 的標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 製成對照標準品溶液。
2. 準確稱取標準品龍膽苦苷 1.0 mg，加 1 mL 甲醇製成每 1 mL 含龍膽苦苷 1000 μg 的標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 製成對照標準品溶液。

(四) 檢品溶液

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 0.25 g，置 50 mL 離心管中，準確加入 75% 甲醇 10 mL，超音波振盪處理(功率 300W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，取上清液，殘渣部分重複提取 1 次，合併上清液，上清液移入 25 mL 容量瓶中，加 75% 甲醇至刻度，搖勻再過濾(syringe filter, PTFE 0.45 μm)，即得。

(五) 測定法

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標準品馬錢子苷酸及龍膽苦苷的含量，即得。

(六) 檢量線

1. 準確吸取標準品馬錢子苷酸儲備溶液(1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$)適量，以甲醇稀釋製成含馬錢子苷酸分別為 500、300、200、100、50、20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的標準品溶液。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 。
2. 準確吸取標準品龍膽苦苷儲備溶液(1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$)適量，以甲醇稀釋製成含龍膽苦苷分別為 1000、800、500、300、200、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的標準品溶液。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

1. 以馬錢子苷酸濃度為 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以馬錢子苷酸的波峰面積為指標，求出相對標準差。
2. 以龍膽苦苷濃度為 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以龍膽苦苷的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性：取同一批市售秦艽藥材粉末，依秦艽藥材檢品溶液製備方法平行製備五份秦艽藥材檢品溶液，進樣測定，以馬錢子苷酸及龍膽苦苷的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售秦艽藥材粉末，依秦艽藥材檢品溶液製備方法製備秦艽藥材檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以馬錢子苷酸及龍膽苦苷的波峰面積為指標，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 $\geq 3:1$ 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 $\geq 10:1$ 時之濃度，作為定量極限估計值。

(十) 添加回收率試驗

1. 取已知馬錢子苷酸含量的秦艽藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 0.1 g，分別加入 0.8 mL 的馬錢子苷酸溶液(1.0 mg/mL)，並按檢品溶液製備方法操作測定。
2. 取已知龍膽苦苷含量的秦艽藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 0.1 g，分別加入 1.5 mL 的龍膽苦苷溶液(1.0 mg/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：COSMOSIL 5C₁₈-AR-II Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：254 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：室溫
5. 注入量：10 μL
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	22	78
30	22	78

(十二) 臺灣市售秦艽藥材含量測定

取 10 批市售秦艽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 公式計算樣品馬錢子苷酸及龍膽苦苷的百分含量。

(十三) 秦艽藥材檢品之 UPLC 層析條件

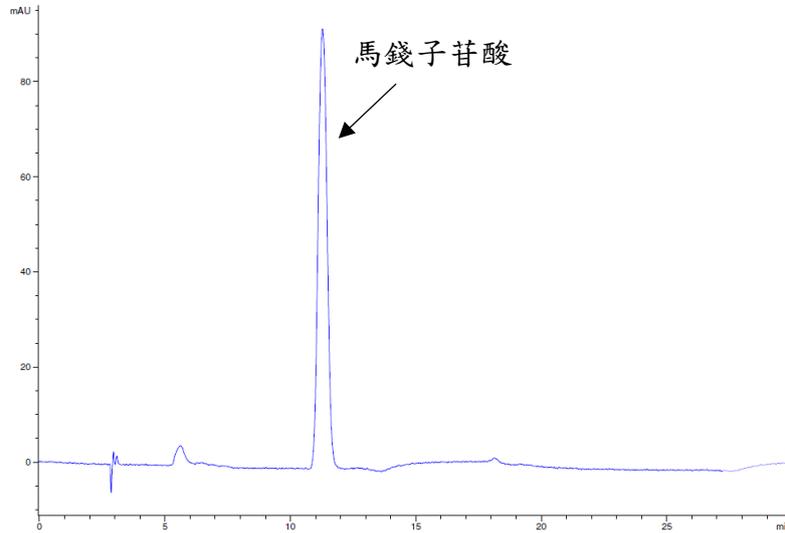
1. 層析管：Agilent Poroshell 120 EC-C18 Column (100 × 3.0 mm, 2.7 μm)
2. 檢測波長：254 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	22	78
15	22	78

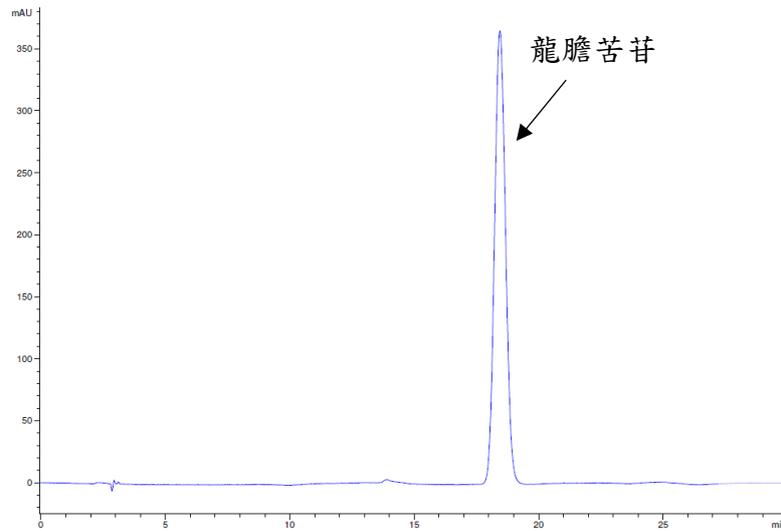
五、結果

(一) 標準品馬錢子苷酸及龍膽苦苷之 HPLC 層析

於滯留時間 11.4 分鐘處顯示馬錢子苷酸標準品波峰(圖一)；於滯留時間 18.4 分鐘處顯示龍膽苦苷標準品波峰(圖二)。



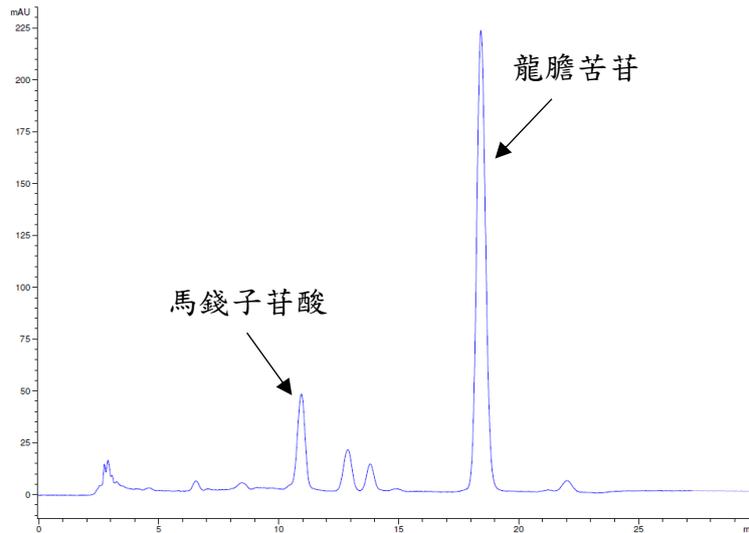
圖一、馬錢子苷酸標準品溶液之 HPLC 層析圖



圖二、龍膽苦苷標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售秦艽檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 11.4 分鐘顯示秦艽檢品中馬錢子苷酸的波峰，於滯留時間 18.4 分鐘顯示秦艽檢品中龍膽苦苷的波峰(圖三)。馬錢子苷酸之分離率(R)為 8.38，托尾因子(T)為 0.99，龍膽苦苷之分離率(R)為 7.10，托尾因子(T)為 1.09，均在系統適用性要求內。



圖三、市售秦艽藥材檢品之 HPLC 層析圖

表一、馬錢子苷酸與龍膽苦苷之分離率與拖尾因子

	馬錢子苷酸	龍膽苦苷
分離率	8.38	7.10
拖尾因子	0.99	1.09

(三) 最佳萃取溶媒評估

以 75% 甲醇為溶媒時，每克藥材重量所得馬錢子苷酸及龍膽苦苷的波峰面積最大，顯示 75% 甲醇為最佳萃取溶媒。

表二、不同萃取溶媒評估

溶媒	馬錢子苷酸波峰面積	龍膽苦苷波峰面積	最佳萃取
甲醇	3596	15001	
75% 甲醇	3726	15553	√
50% 甲醇	3704	15441	
乙醇	2710	14816	
75% 乙醇	3674	14940	
50% 乙醇	3671	15173	
水	3516	13898	

(四) 最佳萃取次數評估

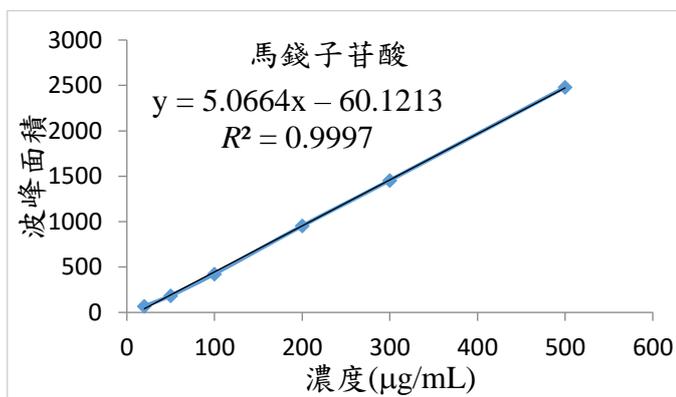
結果顯示萃取 2 次基本上已將馬錢子苷酸及龍膽苦苷萃取完全(萃取率大於 98%)。

表三、秦艽藥材檢品萃取次數評估

75% 甲醇萃取次數	馬錢子苷酸波峰面積	龍膽苦苷波峰面積
第 1 次	3726	15553
第 2 次	240	987
第 3 次	N.D.	N.D.

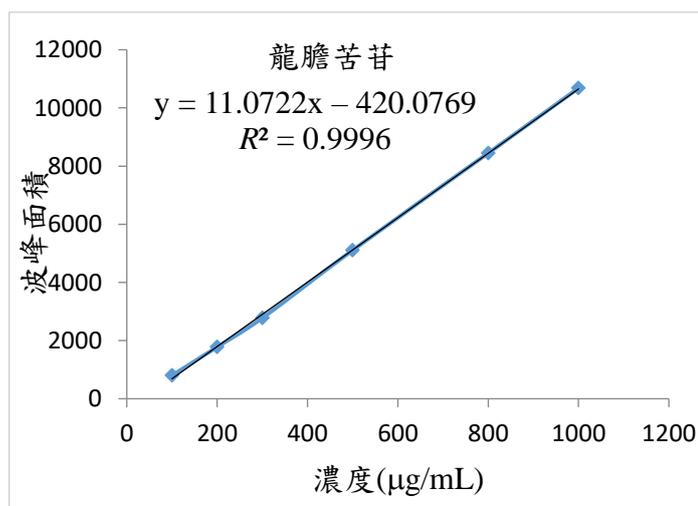
(五) 標準品馬錢子苷酸及龍膽苦苷之檢量線

1. 經不同濃度馬錢子苷酸(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 $y = 5.0664x - 60.1213$, $R^2 = 0.9997$, 顯示濃度在 20–500 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖四)。



圖四、標準品馬錢子苷酸之檢量線圖

2. 經不同濃度龍膽苦苷(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 $y = 11.0722x - 420.0769$, $R^2 = 0.9996$, 顯示濃度在 100–1000 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖五)。



圖五、標準品龍膽苦苷之檢量線圖

表四、馬錢子苷酸及龍膽苦苷之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
馬錢子苷酸	20–500 $\mu\text{g/mL}$	$y = 5.0664x - 60.1213$	0.9997
龍膽苦苷	100–1000 $\mu\text{g/mL}$	$y = 11.0722x - 420.0769$	0.9996

(六) 精密度試驗

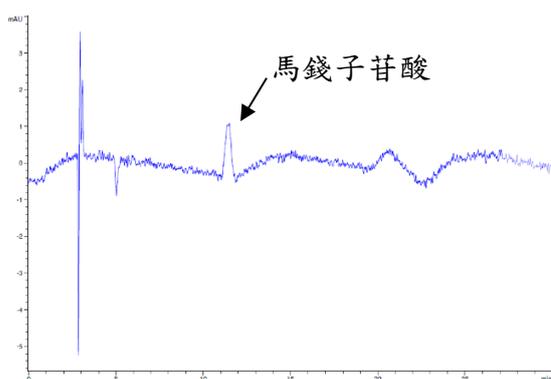
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，馬錢子苷酸精密度之相對標準差為 0.14%，龍膽苦苷精密度之相對標準差為 0.29%，均在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

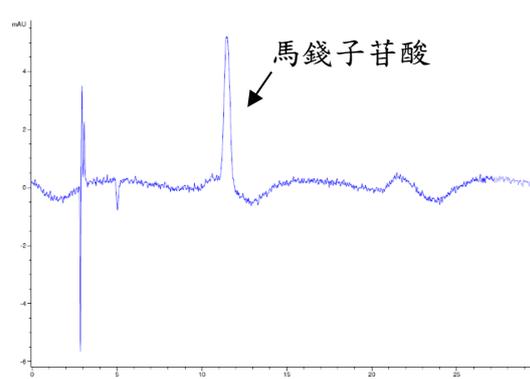
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，馬錢子苷酸重複性之相對標準差為 0.63%，龍膽苦苷重複性之相對標準差為 0.47%，均在系統適用性要求內。馬錢子苷酸和龍膽苦苷在 24 小時內穩定，馬錢子苷酸穩定性之相對標準差為 0.77%，龍膽苦苷穩定性之相對標準差為 0.53%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

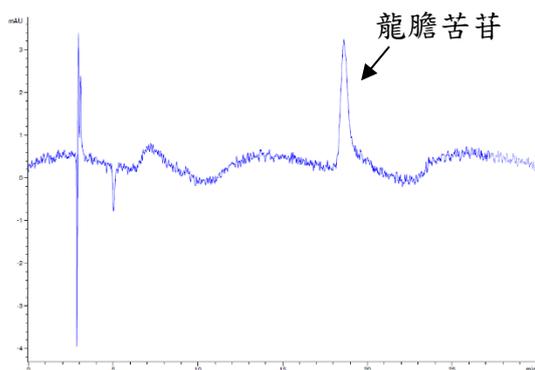
馬錢子苷酸偵測極限為 10 $\mu\text{g/mL}$ (圖六)，定量極限為 20 $\mu\text{g/mL}$ (圖七)。龍膽苦苷偵測極限為 10 $\mu\text{g/mL}$ (圖八)，定量極限為 20 $\mu\text{g/mL}$ (圖九)。



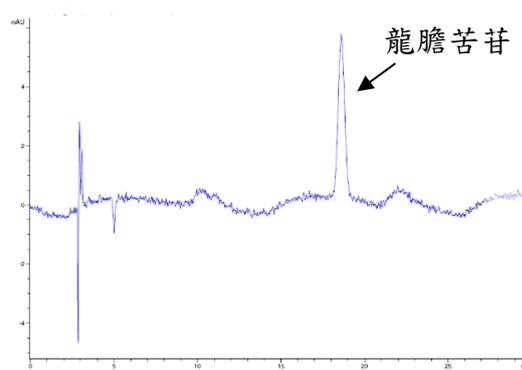
圖六、馬錢子苷酸之偵測極限層析圖



圖七、馬錢子苷酸之定量極限層析圖



圖八、龍膽苦苷之偵測極限層析圖



圖九、龍膽苦苷之定量極限層析圖

表五、各項檢驗分析

檢測項目	馬錢子苷酸濃度	R.S.D. (%)	龍膽苦苷濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	300 µg/mL	0.14	500 µg/mL	0.29
重複性 (n=5)	檢品溶液(No. 1)	0.63	檢品溶液(No. 1)	0.47
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No. 1)	0.77	檢品溶液(No. 1)	0.53
偵測極限 (n=1)	10 µg/mL	-	10 µg/mL	-
定量極限 (n=1)	20 µg/mL	-	20 µg/mL	-

(九) 添加回收率試驗

馬錢子苷酸平均添加回收率為 97.1%，相對標準偏差為 1.41% (表六)。
龍膽苦苷平均添加回收率為 96.0%，相對標準偏差為 1.70% (表七)。

表六、馬錢子苷酸添加回收率

編號	藥材稱重(g) (No. 1)	含有量 (mg)	加入量 (mg)	測得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	R.S.D. (%)
1	0.0999	2.464	0.80	3.237	96.6	97.11	1.41
2	0.1004	2.476	0.80	3.269	99.1		
3	0.0999	2.464	0.80	3.246	97.7		
4	0.1000	2.466	0.80	3.240	96.7		
5	0.1002	2.471	0.80	3.235	95.4		

表七、龍膽苦苷添加回收率

編號	藥材稱重(g) (No. 1)	含有量 (mg)	加入量 (mg)	測得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	R.S.D. (%)
1	0.1003	4.969	1.50	6.424	97.0	95.96	1.70
2	0.1000	4.954	1.50	6.402	96.5		
3	0.1002	4.964	1.50	6.364	93.4		
4	0.1002	4.964	1.50	6.396	95.5		
5	0.1000	4.954	1.50	6.416	97.4		

(十) 臺灣市售秦艽藥材含量測定

10 批秦艽藥材之含量測定結果(乾燥品)如表八所示，馬錢子苷酸含量為 1.43–3.34%、龍膽苦苷含量為 4.35–6.70%。建議秦艽藥材指標成分馬錢子苷酸的含量不得少於 1.5%、龍膽苦苷的含量不得少於 3.7%。龍膽苦苷及馬錢子苷酸含量為 6.30–9.98%，建議秦艽藥材指標成分馬錢子苷酸及龍膽苦苷的總量不得少於 4.0%。理論板數按馬錢子苷酸波峰計算均應不低於 3000 (實際值為 5500)、按龍膽苦苷波峰計算均應不低於 5000 (實際值為 11000)。

表八、臺灣市售秦艽藥材檢品之馬錢子苷酸和龍膽苦苷的含量

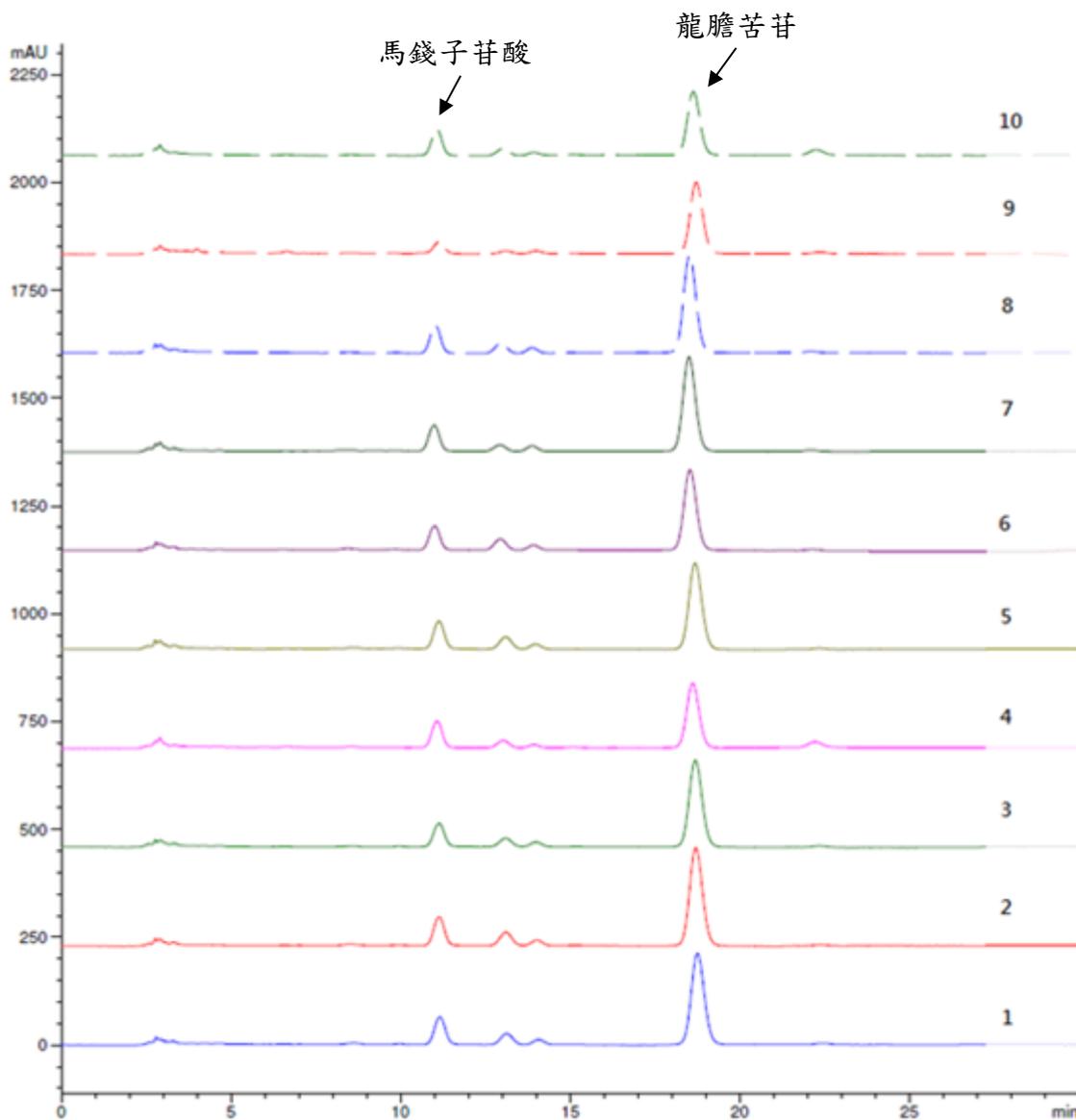
藥材編號 (No.)	馬錢子苷酸含量 (%)	龍膽苦苷含量 (%)	馬錢子苷酸及龍膽苦苷 總含量(%)
1 (CA)	3.33	6.36	9.69
2 (CE)	3.34	6.64	9.98
3 (NE)	2.86	6.09	8.95
4 (SUA)	3.05	4.35	7.40
5 (SK2)	3.15	6.70	9.85
6 (NJ)	2.93	5.53	8.46
7 (NRB)	3.05	6.20	9.25
8 (SCC)	3.18	6.28	9.46
9 (SUB-1)	1.43	4.87	6.30
10 (SUC)	2.75	5.53	8.28
平均值±S.D.	2.91±0.55	5.85±0.77	8.762±1.180

(十一) 秦艽藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售秦艽藥材檢品溶液各 10 μ L 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：COSMOSIL 5C₁₈-AR-II Column (250 \times 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：254 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：室溫
5. 注入量：10 μ L
6. 移動相：

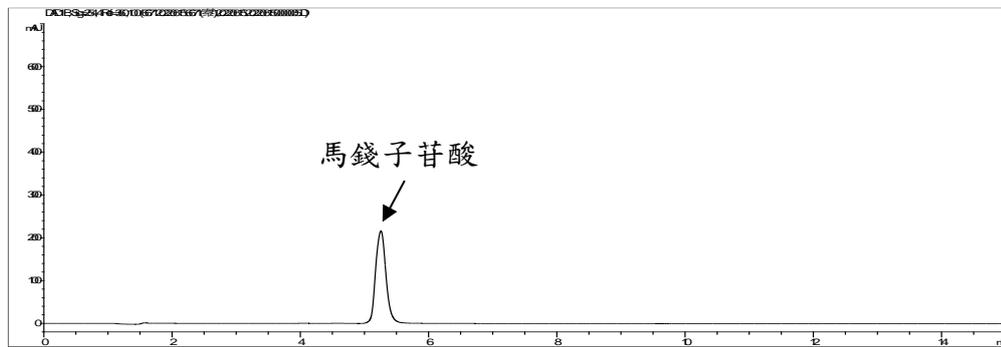
時間(min)	甲醇(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	22	78
30	22	78



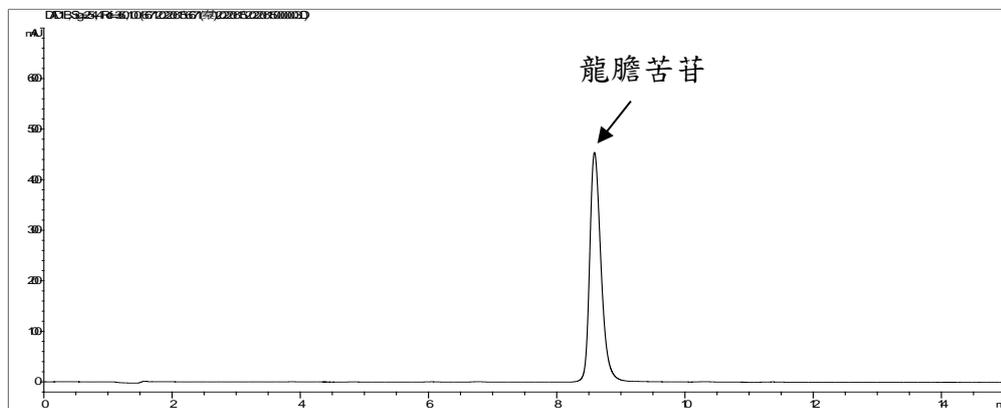
圖十、10 批秦艽藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 標準品馬錢子苷酸及龍膽苦苷之 UPLC 層析

於滯留時間 5.25 分鐘顯示馬錢子苷酸標準品的波峰(圖十一)；於滯留時間 8.58 分鐘顯示龍膽苦苷標準品的波峰(圖十二)。



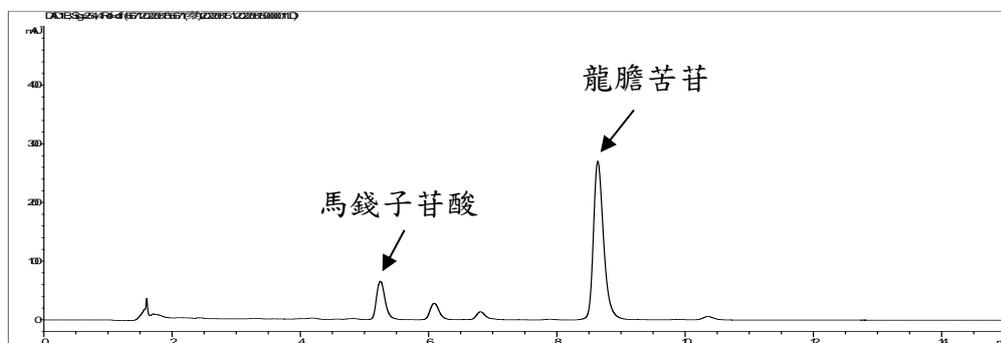
圖十一、馬錢子苷酸標準品溶液之 UPLC 層析圖



圖十二、龍膽苦苷標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售秦艽藥材檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 5.24 分鐘顯示秦艽藥材檢品中馬錢子苷酸的波峰；於滯留時間 8.63 分鐘顯示秦艽檢品中龍膽苦苷的波峰(圖十三)。

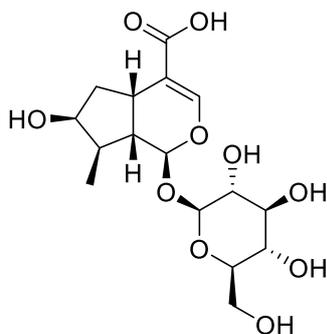


圖十三、市售秦艽藥材檢品之 UPLC 層析圖

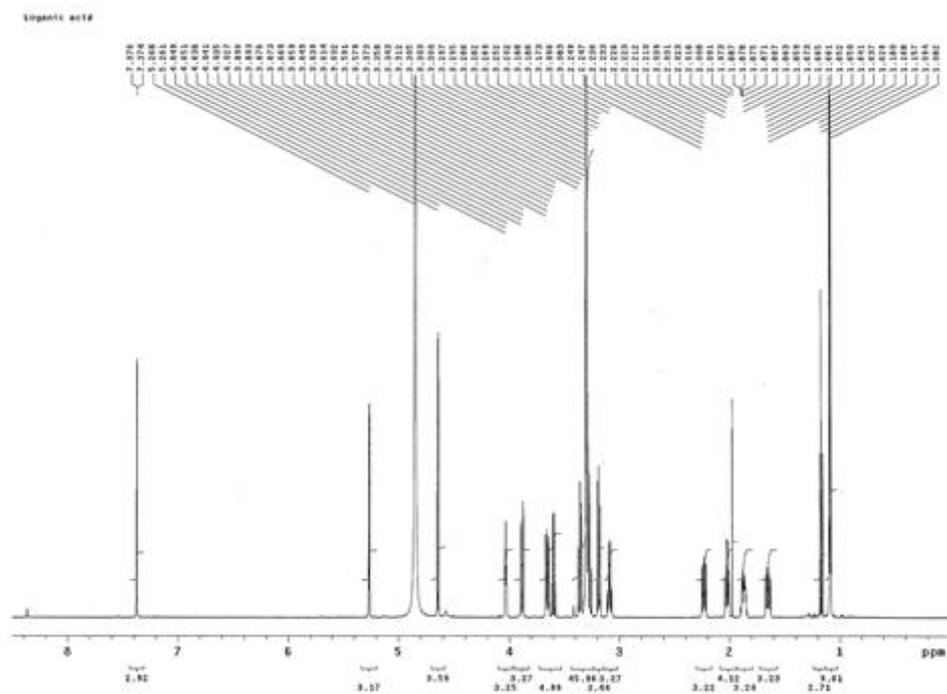
(十四) 馬錢子苷酸的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{16}H_{24}O_{10}$ ；分子量：376.36；熔點：148–150 °C；白色固體。

(十五) 馬錢子苷酸的結構

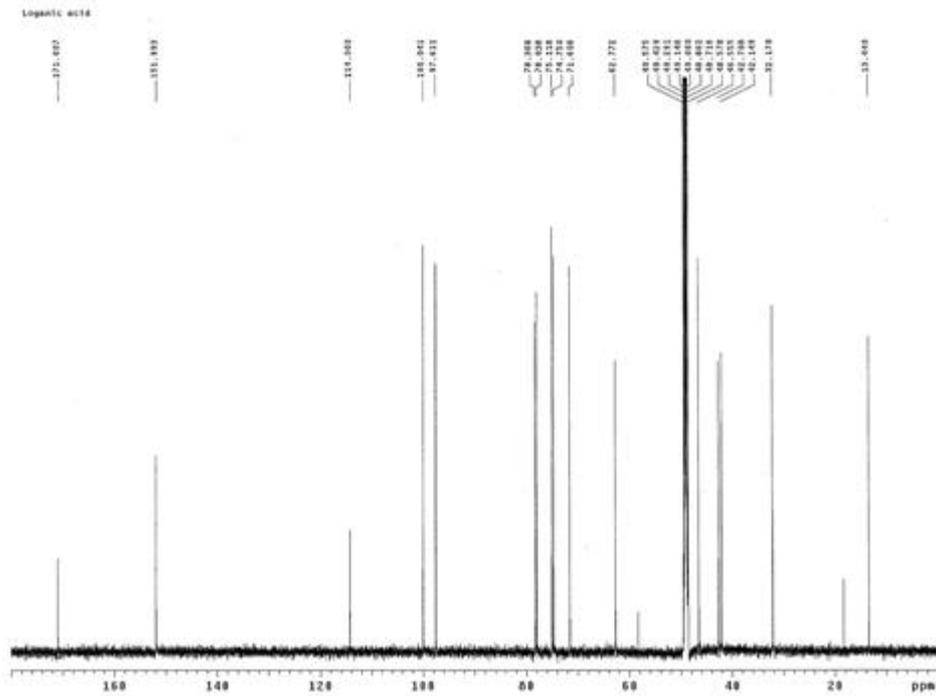


(十六) 馬錢子苷酸的 1H NMR 圖譜



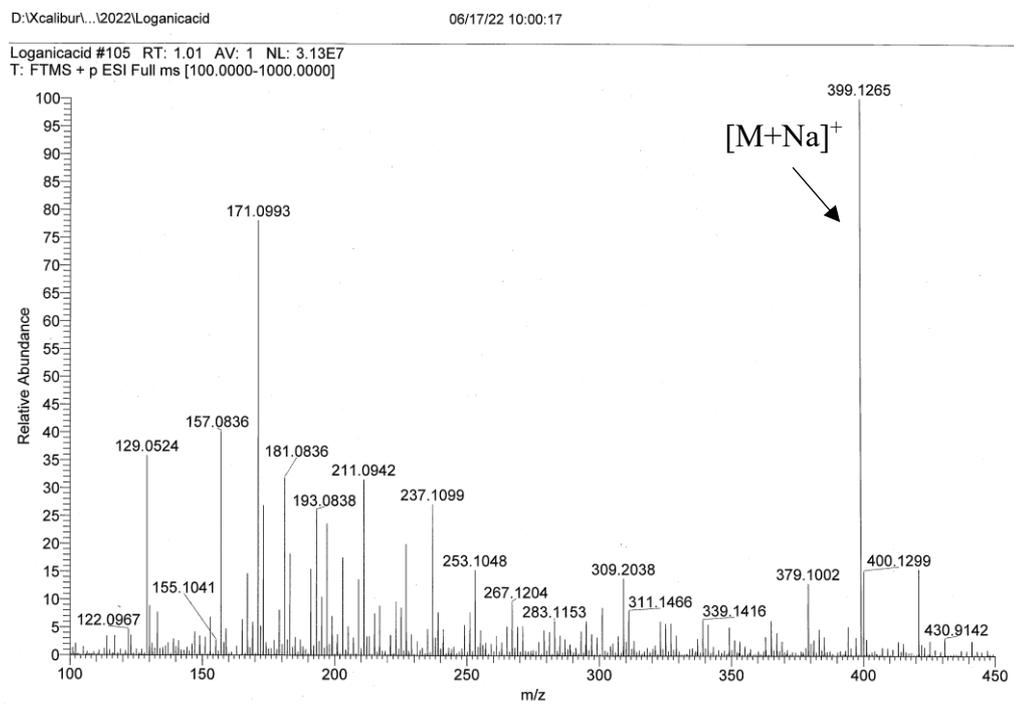
圖十四、馬錢子苷酸的 1H NMR 圖譜(CD_3OD)

(十七) 馬錢子苷酸的 ^{13}C NMR 圖譜



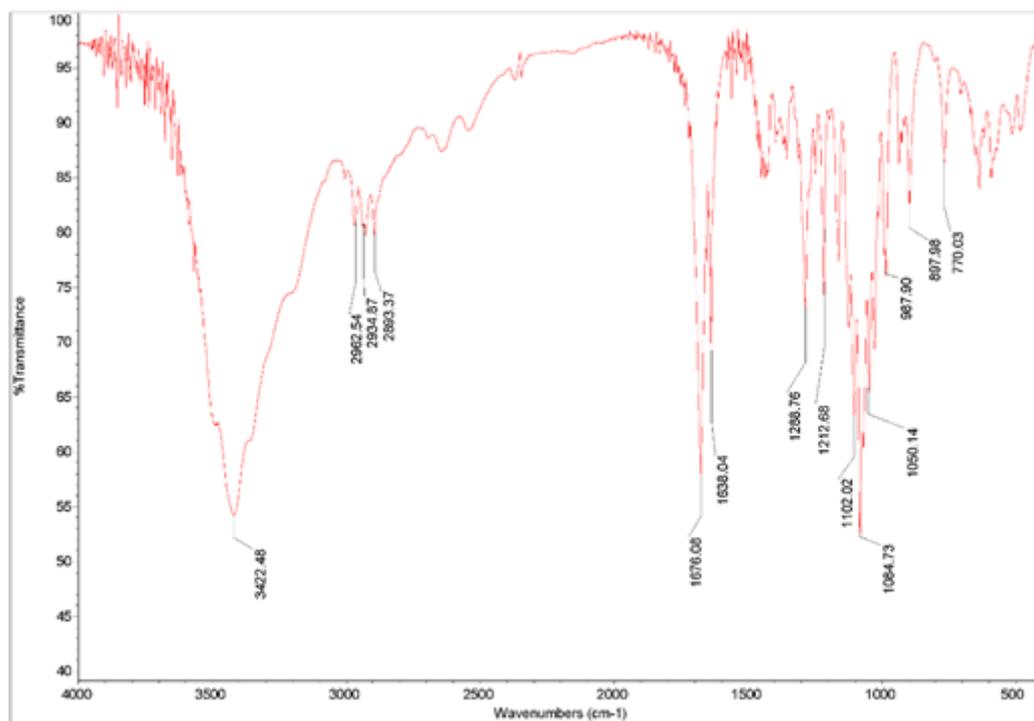
圖十五、馬錢子苷酸的 ^{13}C NMR 圖譜(CD_3OD)

(十八) 馬錢子苷酸的 ESI-MS 圖譜



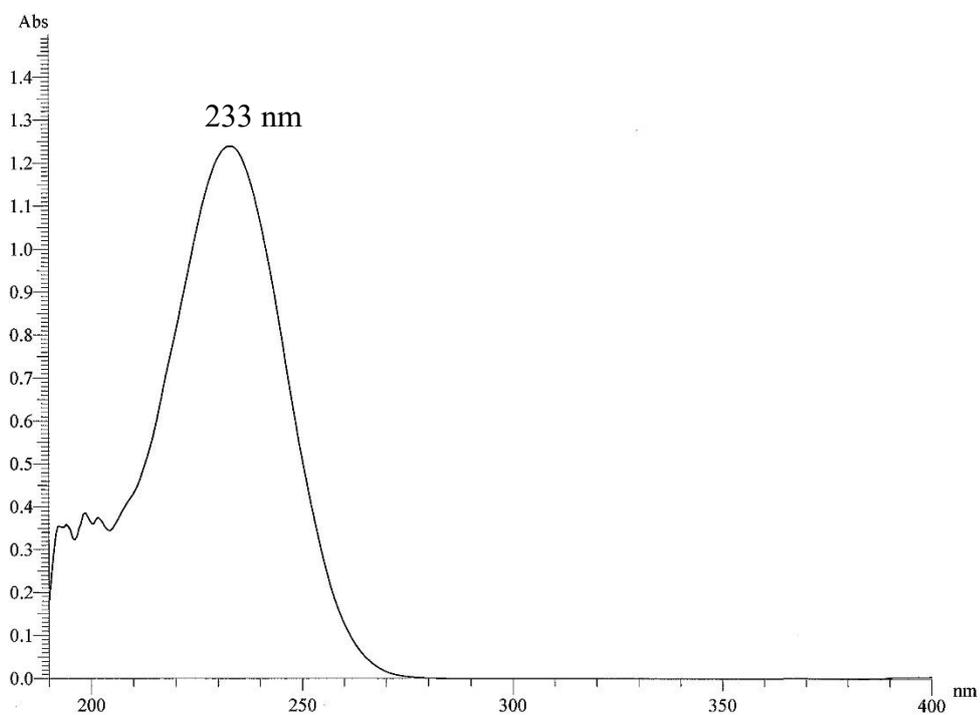
圖十六、馬錢子苷酸的 ESI-MS 圖譜

(十九) 馬錢子苷酸的 FTIR 圖譜



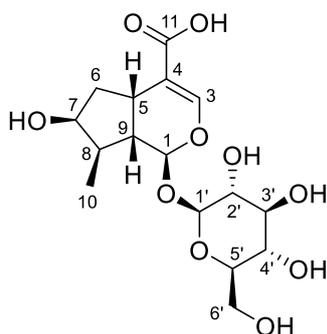
圖十七、馬錢子苷酸的 FTIR 圖譜

(二十) 馬錢子苷酸的 UV 圖譜



圖十八、馬錢子苷酸的 UV 圖譜

(二十一) 馬錢子苷酸的氫、碳化學位移



表九、馬錢子苷酸的氫、碳化學位移(CD₃OD)^a

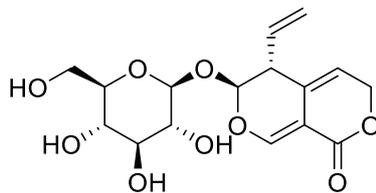
position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1	5.26 (d, 4.2)	97.61
3	7.38 (d, 1.2)	151.99
4	-	114.30
5	3.09 (q, 4.2)	32.17
6	1.65 (ddd, 13.8, 7.8, 4.8) 2.23 (ddd, 13.8, 7.8, 1.2)	46.56
7	4.04 (br t, 4.8)	75.12
8	1.87 (m)	42.71
9	2.01 (td, 9.0, 4.2)	48.58
10	1.09 (d, 7.2)	13.44
11	-	171.01
1'	4.64 (d, 7.8)	100.04
2'	3.19 (dd, 9.0, 7.8)	74.75
3'	3.36 (t, 9.0)	78.04
4'	3.27 (m)	71.61
5'	3.28 (m)	78.37
6'	3.65 (dd, 12.0, 6.0) 3.88 (dd, 12.0, 1.8)	62.77

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

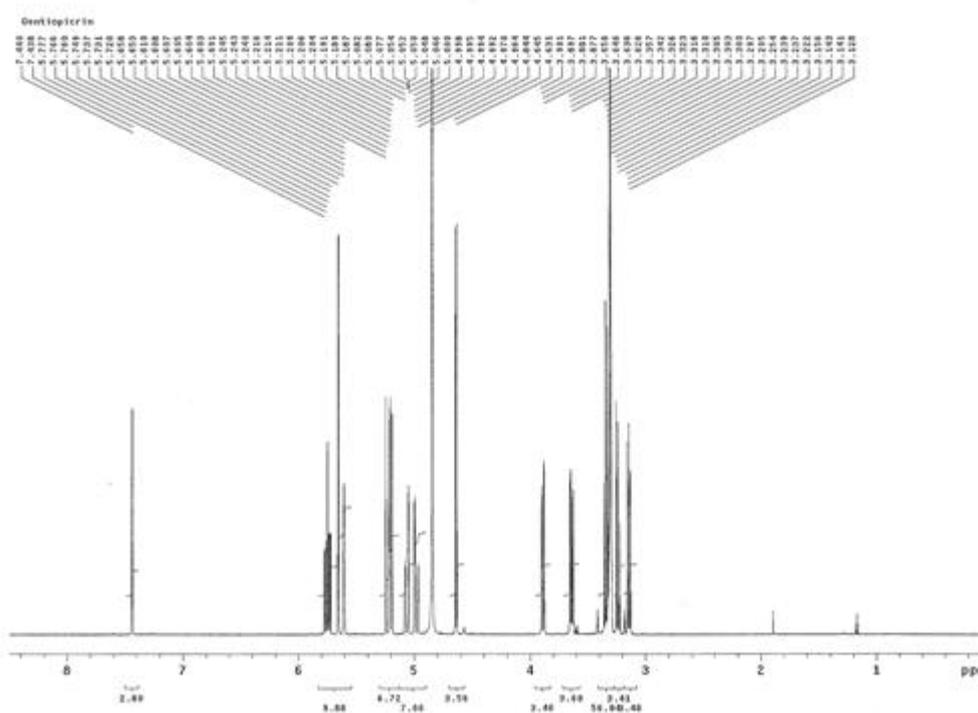
(二十二) 龍膽苦苷(Gentiopicrin)的分子式、分子量與熔點

分子式：C₁₆H₂₀O₉；分子量：356.33；熔點：187–189 °C；白色固體。

(二十三) 龍膽苦苷的結構

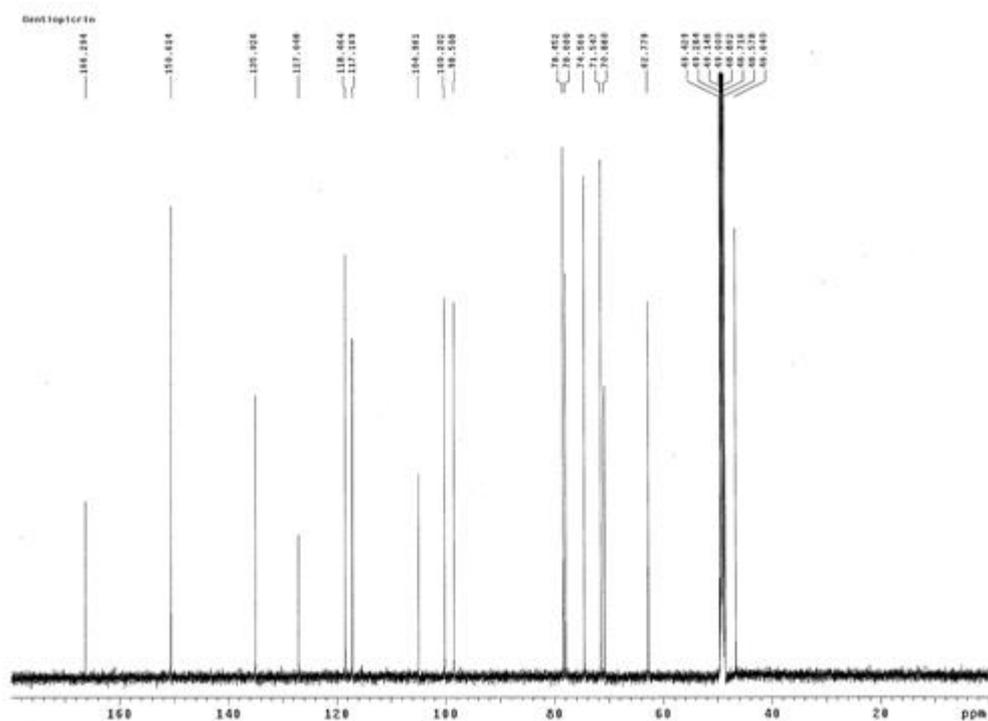


(二十四) 龍膽苦苷的 ¹H NMR 圖譜



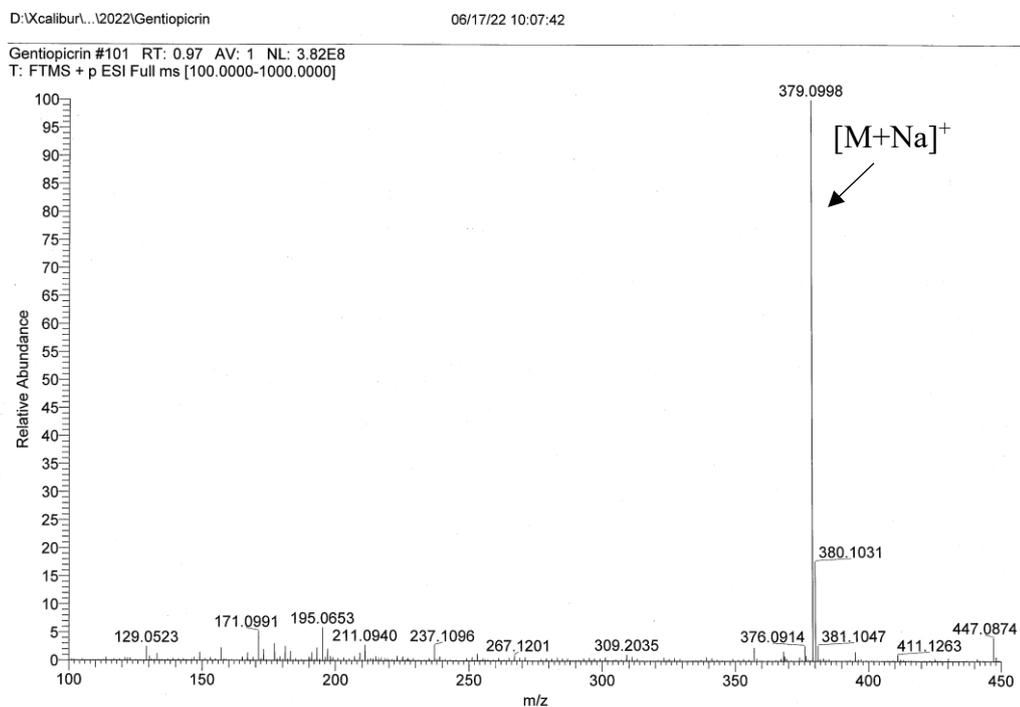
圖十九、龍膽苦苷的 ¹H NMR 圖譜(CD₃OD)

(二十五) 龍膽苦苷的 ^{13}C NMR 圖譜



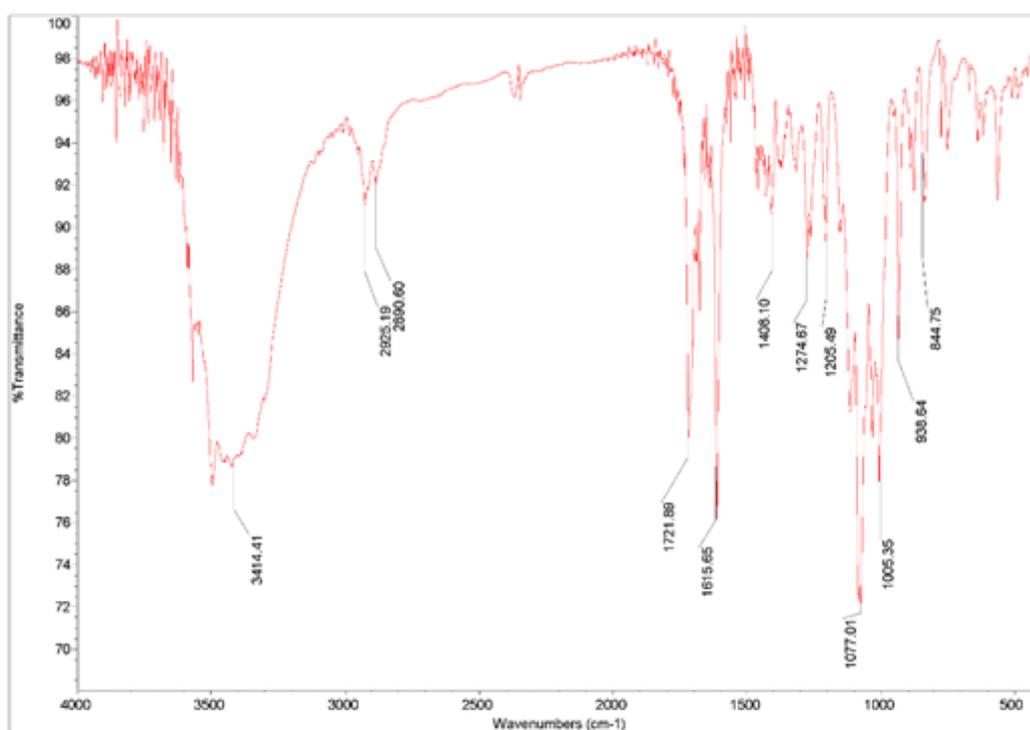
圖二十、龍膽苦苷的 ^{13}C NMR 圖譜(CD_3OD)

(二十六) 龍膽苦苷的 ESI-MS 圖譜



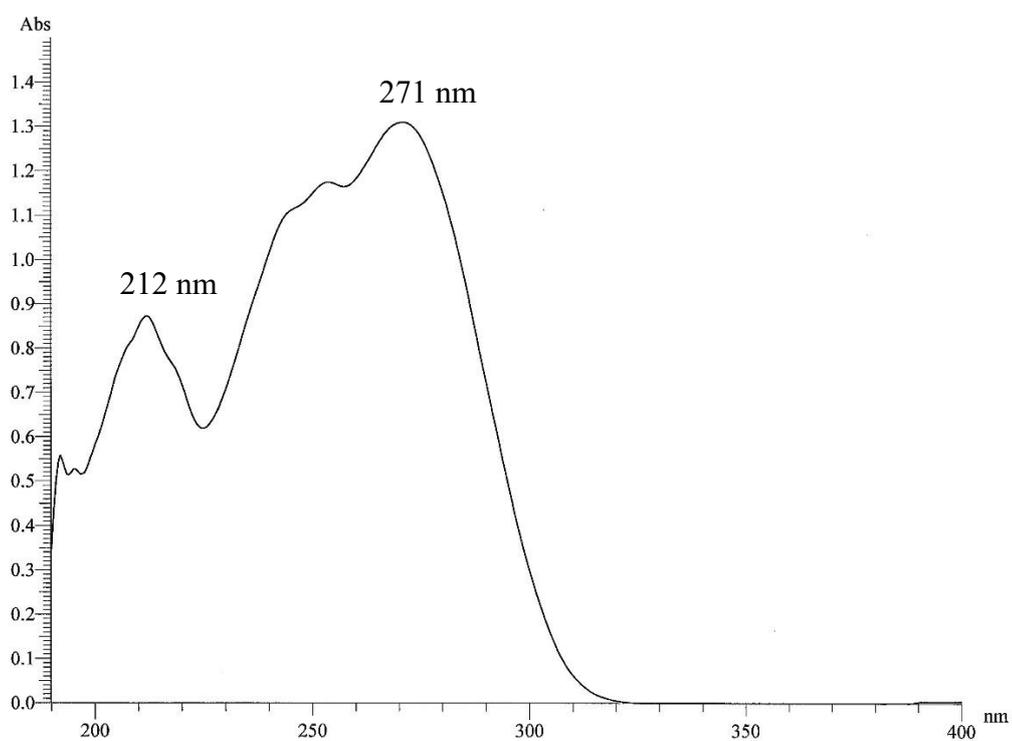
圖二十一、龍膽苦苷的 ESI-MS 圖譜

(二十七) 龍膽苦苷的 FTIR 圖譜



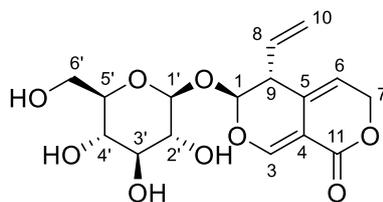
圖二十二、龍膽苦苷的 FTIR 圖譜

(二十八) 龍膽苦苷的 UV 圖譜



圖二十三、龍膽苦苷的 UV 圖譜

(二十九) 龍膽苦苷的氫、碳化學位移



表十、龍膽苦苷的氫、碳化學位移(CD₃OD)^a

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1	5.66 (d, 3.0)	98.51
3	7.44 (d, 1.2)	150.61
4	-	104.96
5	-	127.05
6	5.61 (m)	117.17
7	4.98 (m), 5.07 (m)	70.88
8	5.75 (ddd, 17.4, 10.2, 6.6)	135.03
9	3.29 (m)	46.64
10	5.19 (dt, 10.2, 1.2), 5.23 (dt, 17.4, 1.2)	118.46
11	-	166.29
1'	4.64 (d, 8.4)	100.20
2'	3.14 (dd, 9.0, 7.8)	74.57
3'	3.34 (t, 9.0)	78.00
4'	3.24 (dd, 10.2, 9.0)	71.55
5'	3.30 (m)	78.45
6'	3.64 (dd, 12.0, 6.0), 3.89 (dd, 12.0, 2.4)	62.78

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

秦艽 TLC

生藥名：GENTIANAE MACROPHYLLAE RADIX

英文名：Largeleaf Gentian Root

基 原：本品為龍膽科 Genyanaceae 植物秦艽 *Gentiana macrophylla* Pall.、麻花秦艽 *Gentiana straminea* Maxim.、粗莖秦艽 *Gentiana crassicaulis* Duthie ex Burkill 或小秦艽 *Gentiana dahurica* Fisch.之乾燥根。

一、方法

- (一) 檢品溶液 **【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》✓**
—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】《中華人民共和國藥典 2020》
—取本品粉末 0.5 g，加甲醇 10 mL，超音波振盪 15 分鐘，過濾，取濾液作為檢品溶液。
【萃取方法 3】《香港中藥材標準第六冊》
—取本品粉末 0.5 g，加乙醇 5 mL，超音波振盪 15 分鐘，過濾，取濾液作為檢品溶液。
- (二) 對照標準品 取龍膽苦苷(Gentiopicrosin)，馬錢子苷酸(Loganic acid)對照標準品，加甲醇製成每 1 mL 各含 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】《臺灣中藥典第四版 2021》、《中華人民共和國藥典 2020》**
—乙酸乙酯：甲醇：水 (10：2：1)
【展開劑 2】《香港中藥材標準第六冊》
—乙酸乙酯：乙醇：無水乙酸：水 (5：1：0.1：0.5)
【展開劑 3】(自行開發)✓
—乙酸乙酯：甲醇：無水乙酸：水 (10：2：0.6：1)
- (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，於主波長 254 nm 之紫外燈照射下檢視之，或以 10%硫酸/乙醇試液(H₂SO₄/EtOH TS)噴霧後，105 °C加熱至條帶顯色清晰，於可見光照射下檢視之。

二、萃法選擇及濃度測試

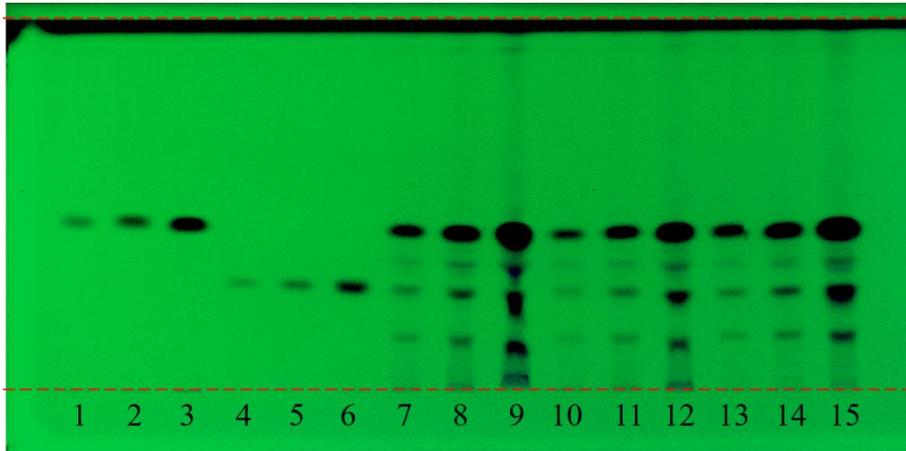
實驗日期：111/06/30

相對溼度(RH)：67%

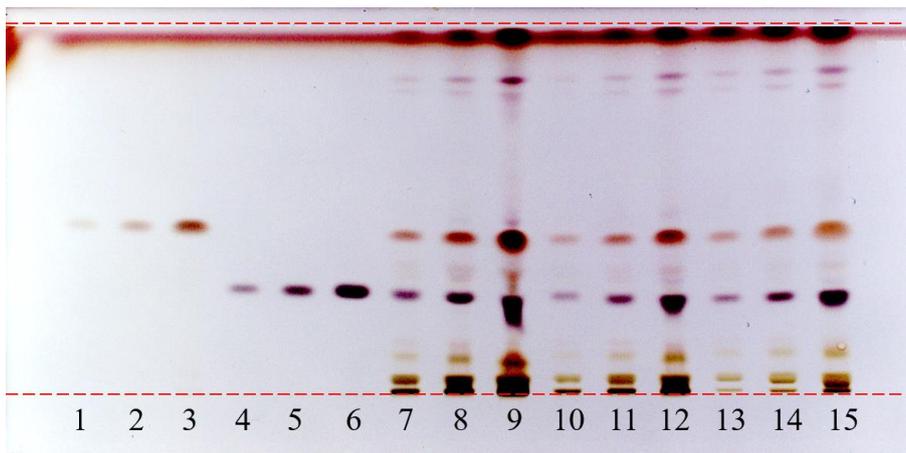
溫度(RT)：23.5 °C

【展開劑 3】(自行開發)——乙酸乙酯：甲醇：無水乙酸：水 (10：2：0.6：1)

—— HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後可見光檢出



編號	名稱	點注量
1, 2, 3	龍膽苦苷(1.0 mg/mL)	1, 2, 5 μ L
4, 5, 6	馬錢子苷酸(1.0 mg/mL)	1, 2, 5 μ L
7, 8, 9	檢品溶液 10【萃取方法 1】	1, 2, 5 μ L
10, 11, 12	檢品溶液 10【萃取方法 2】	1, 2, 5 μ L
13, 14, 15	檢品溶液 10【萃取方法 3】	1, 2, 5 μ L

建議萃法：3 種萃法之檢品溶液中皆有分離與檢出標準品龍膽苦苷，馬錢子苷酸，由於濃度適中，故維持原臺灣中藥典【萃取方法 1】。

建議點注量：龍膽苦苷 5 μ L，馬錢子苷酸 5 μ L，檢品溶液【萃取方法 1】2 μ L。

三、溶媒系統選擇

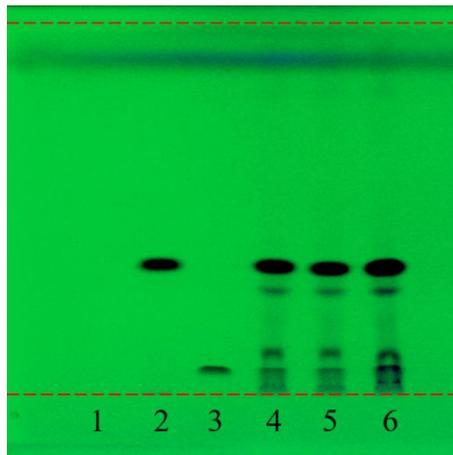
實驗日期：111/06/30

相對溼度(RH)：67%

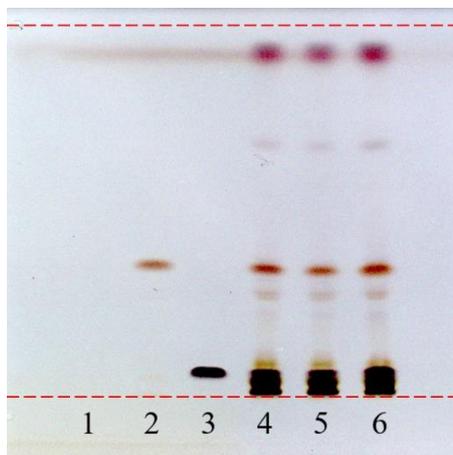
溫度(RT)：23.5 °C

【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版 2021》，《中華人民共和國藥典 2020》——乙酸乙酯：甲醇：水 (10：2：1)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(龍膽苦苷 R_f 值為 0.33，馬錢子苷酸 R_f 值為 0.04)

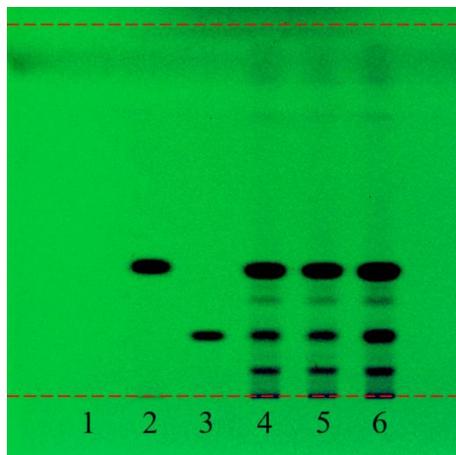


【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——10%硫酸/乙醇試液顯色後可見光檢出(龍膽苦苷 R_f 值為 0.33，馬錢子苷酸 R_f 值為 0.04)

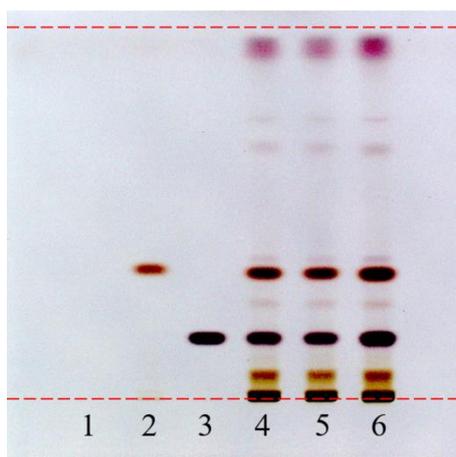


【展開劑 2】《香港中藥材標準第六冊》——乙酸乙酯：乙醇：無水乙酸：水 (5：1：0.1：0.5)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(龍膽苦苷 R_f 值為 0.34，馬錢子苷酸 R_f 值為 0.17)

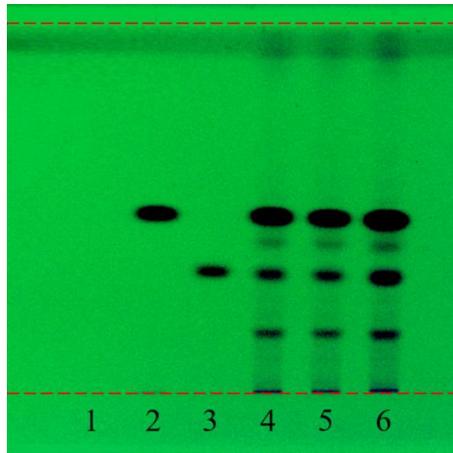


【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——10%硫酸/乙醇試液顯色後可見光檢出(龍膽苦苷 R_f 值為 0.34，馬錢子苷酸 R_f 值為 0.17)

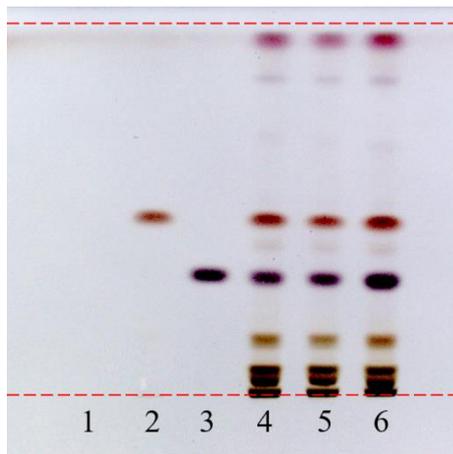


【展開劑 3】(自行開發)——乙酸乙酯：甲醇：無水乙酸：水 (10：2：0.6：1) ✓

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(龍膽苦苷 R_f 值為 0.47，馬錢子苷酸 R_f 值為 0.32)



【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——10%硫酸/乙醇試液顯色後可見光檢出(龍膽苦苷 R_f 值為 0.47，馬錢子苷酸 R_f 值為 0.32)



- 1：Blank
- 2：龍膽苦苷
- 3：馬錢子苷酸
- 4，5：檢品溶液 10
- 6：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 1】方式，三種展開劑皆可從檢品溶液中分離與檢出龍膽苦苷及馬錢子苷酸，因 R_f 值適中且分離較佳，故採用自行開發之【展開劑 3】。

四、觀察方式選擇

實驗日期：111/06/30

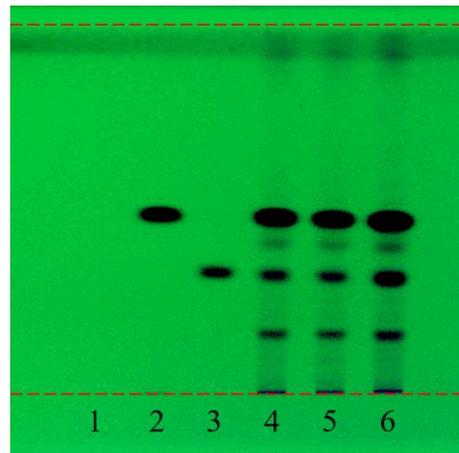
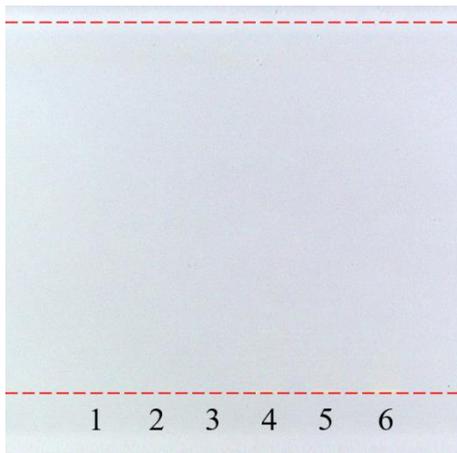
相對溼度(RH)：67%

溫度(RT)：23.5 °C

【展開劑 3】(自行開發)——乙酸乙酯：甲醇：無水乙酸：水 (10：2：0.6：1)

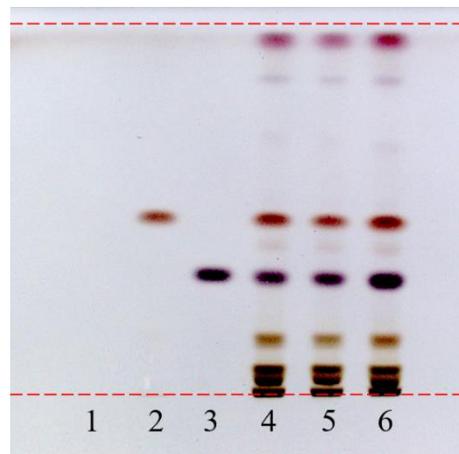
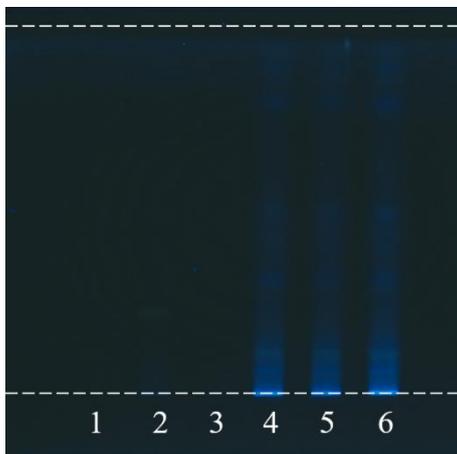
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》—HPTLC 可見光檢出

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》—HPTLC 紫外光(254 nm)檢出✓



【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》—HPTLC 紫外光(365 nm)檢出

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》—HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後可見光檢出✓



- 1：Blank
2：龍膽苦苷
3：馬錢子苷酸
4，5：檢品溶液 10
6：Spike

建議觀察方式：於紫外光(254 nm)檢視，或以 10%硫酸/乙醇顯色後於可見光檢視下，顯示皆有較明顯分離之條帶。

五、十批秦艽藥材樣品檢測

實驗日期：111/06/30

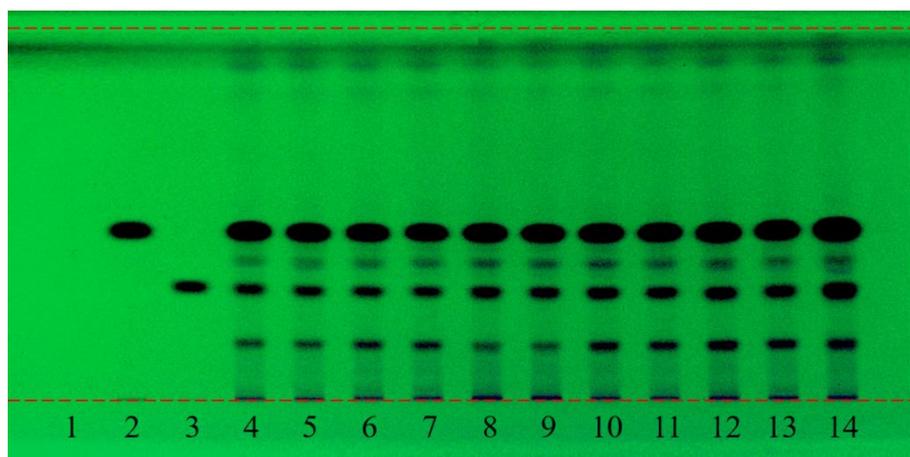
相對溼度(RH)：67%

溫度(RT)：23.5 °C

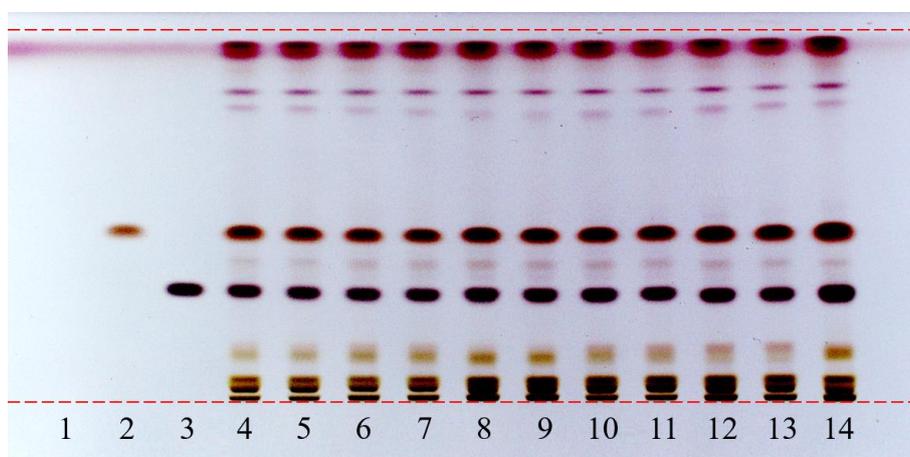
展開劑 3】(自行開發)——乙酸乙酯：甲醇：無水乙酸：水 (10：2：0.6：1)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——HPTLC

(1) 紫外光(254 nm)檢出



(2) 10%硫酸/乙醇試液顯色後可見光檢出

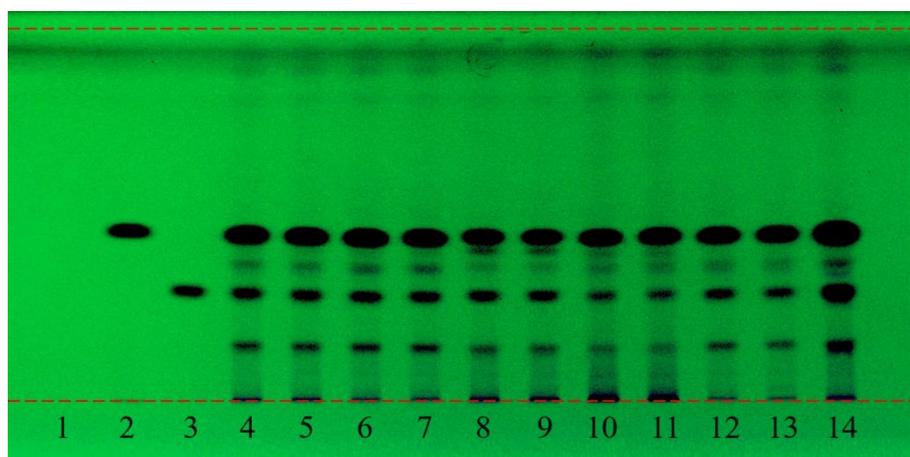


1	Blank	8, 9	檢品溶液 3 (NRB)
2	龍膽苦苷(1.0 mg/mL)	10, 11	檢品溶液 4 (CA)
3	馬錢子苷酸(1.0 mg/mL)	12, 13	檢品溶液 5 (CE)
4, 5	檢品溶液 1 (NE)	14	Spike (檢品溶液 10)
6, 7	檢品溶液 2 (NJ)		

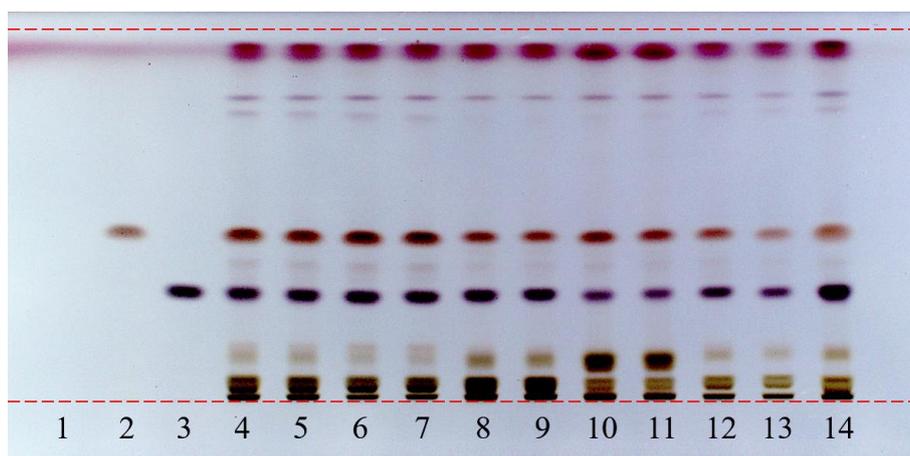
【展開劑 3】(自行開發)——乙酸乙酯：甲醇：無水乙酸：水 (10：2：0.6：1)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——HPTLC

(1) 紫外光(254 nm)檢出



(2) 10%硫酸/乙醇試液顯色後可見光檢出



1	Blank	8, 9	檢品溶液 8 (SUA)
2	龍膽苦苷(1.0 mg/mL)	10, 11	檢品溶液 9 (SUB1)
3	馬錢子苷酸(1.0 mg/mL)	12, 13	檢品溶液 10 (SUC)
4, 5	檢品溶液 6 (SCC)	14	Spike (檢品溶液 10)
6, 7	檢品溶液 7 (SK)		

結論與建議：以【萃取方法 1】及【展開劑 3】方式，顯示分離與檢出龍膽苦苷及馬錢子苷酸的效果較佳，於紫外光(254 nm) 下檢視，或 10%硫酸/乙醇顯色後，於可見光下檢視較佳。