川牛膝

(CYATHULAE RADIX)

川牛膝 MI

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

川牛膝 藥材 HPLC

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

川牛膝 飲片 HPLC

一、材料.....22
二、儀器及層析管柱.....22
三、實驗藥品及試劑來源.....22
四、方法.....22
五、結果.....25

川牛膝 TLC

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.....33
五、十批川牛膝藥材樣品檢測.....34
六、十批川牛膝飲片檢測.....36

川牛膝

(CYATHULAE RADIX)

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川牛膝的乾燥根。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥 材 名：牛膝

生 藥 名：CYATHULAE RADIX

英 文 名：Cyathula Root

基　　原：莧科Amaranthaceae植物川牛膝*Cyathula officinalis* Kuan 之乾燥根，臺灣市售稱「杜牛膝」。

採收加工：冬季採挖，除去蘆頭、鬚根及泥沙，烘曬至半乾後，堆放回潤，再烘乾或曬乾。

藥材性狀：本品呈圓柱形，直或微扭曲，上部較寬，向下略細，少有分枝。表面淺棕褐色，具微扭曲的細縱皺紋、皮孔樣突起和分佈稀疏的支根痕。質韌，不易折斷，斷面淺黃色至棕黃色，維管束點狀散在，排列成數輪，呈黃白色；外側的維管束較小，中央的維管束較大。氣微， 味甜。

生長分佈：多年生草本植物。花期 6~7 月，果期 8~9 月。生於海拔 500 公尺以上的地區，野生於林緣、草叢中或栽培。性喜涼爽、濕潮氣候。四川省多栽培於海拔 1200~2400 公尺的高寒山區。以 1500~1800 公尺的山區栽培為最好，向陽、土層深厚、富含腐殖質的土壤上栽培。忌連作。分佈於中國四川，雲南、貴州等地。

三、藥材組織顯微鑑別(圖 2)

1. 木栓層為數列木栓細胞。
2. 皮層窄，薄壁細胞數列，切向延長。
3. 維管束斷續排列成數輪；最外輪維管束較小，有時僅 1 至數個導管，向內漸大。
4. 最外輪的形成層幾乎連接成環。
5. 木質部由導管及木纖維組成。
6. 中心木質部聚合成群。
7. 薄壁細胞含草酸鈣砂晶與方晶。

四、藥材粉末顯微鑑別(圖 3)

1. 本品粉末為灰棕色。
2. 草酸鈣砂晶散在薄壁細胞中，三角狀、箭頭狀、類方形或形狀不規則，偏光顯微鏡下呈多彩狀。
3. 導管大小不一，主要為網紋導管。
4. 纖維多成束，壁微增厚，紋孔稀疏，壁略增厚，紋孔傾斜或人字形，可見具緣紋孔，孔溝明顯及寬度不一，偏光顯微鏡下呈多彩狀或亮白色。
5. 纖維呈長條形，末端彎曲及漸尖，偏光顯微鏡下呈多彩狀。
6. 木栓細胞呈類方形、類長方形。

圖 1 川牛膝藥材圖

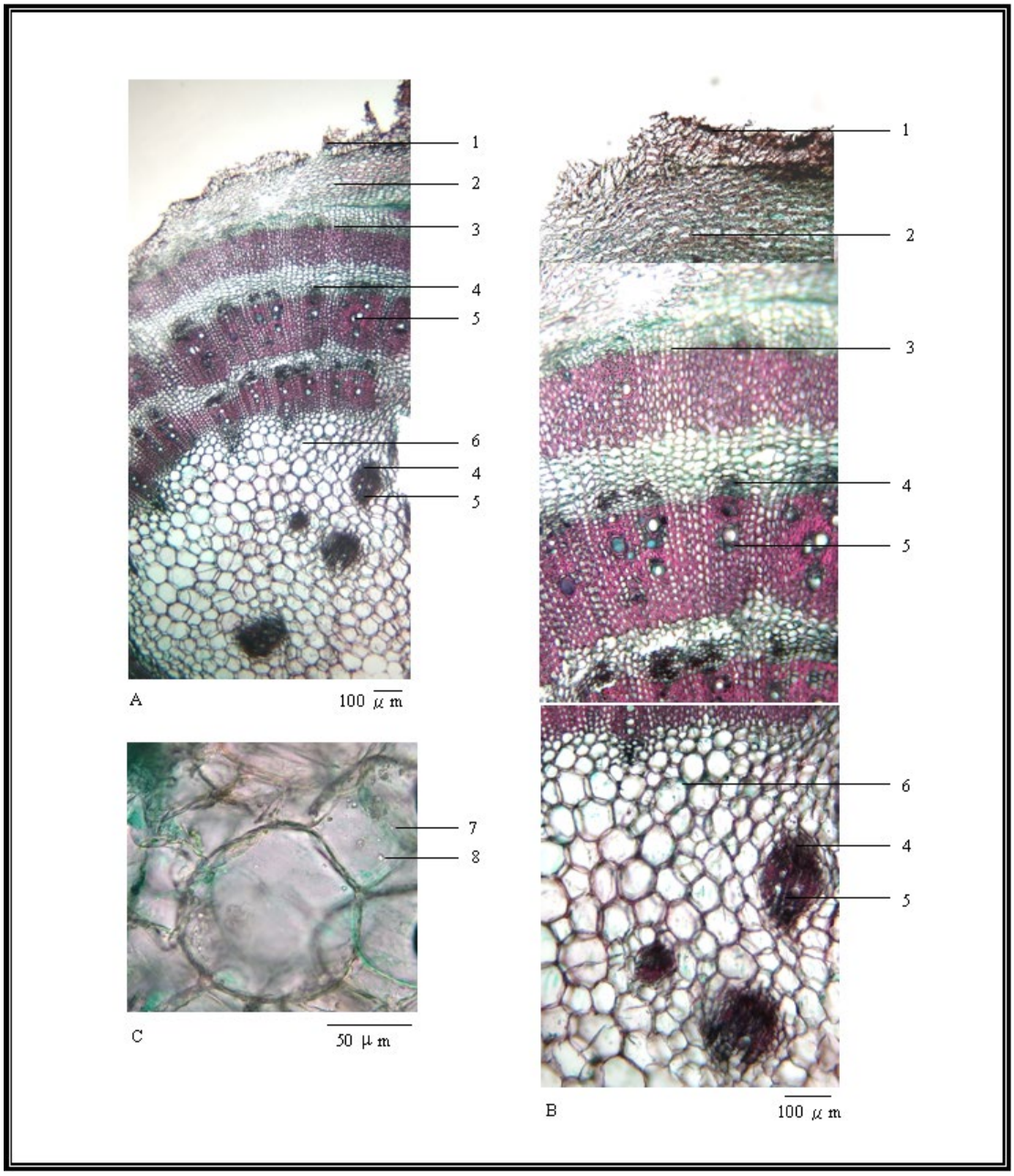


圖 2 川牛膝橫切面顯微特徵圖

A.橫切面圖　B.橫切面放大圖　C.薄壁細胞含草酸鈣砂晶及方晶

1.木栓層 2.皮層 3.形成層 4.韌皮部 5.木質部 6.薄壁細胞 7.草酸鈣砂晶 8.草酸鈣方晶

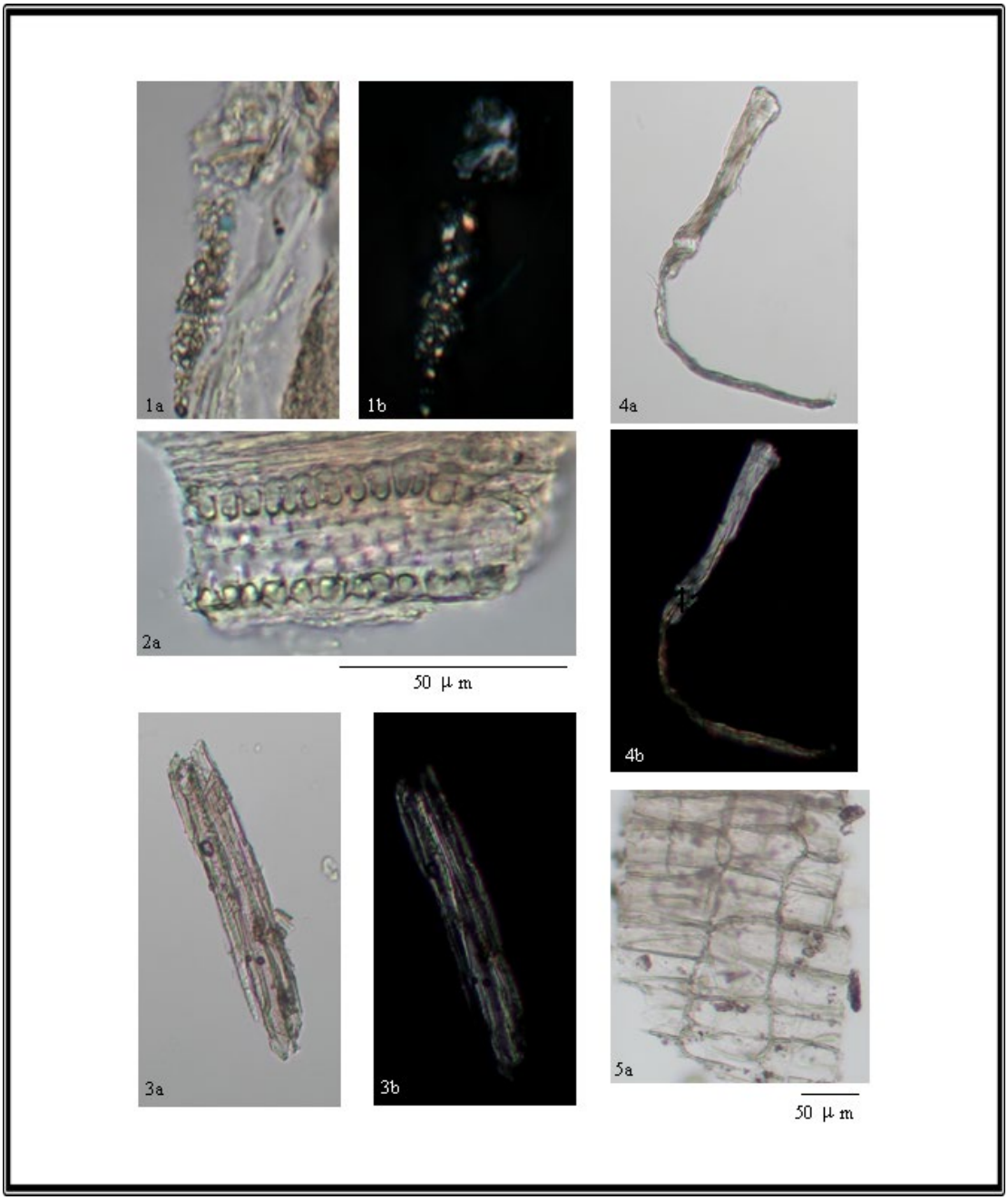


圖 3 川牛膝粉末顯微特徵圖

a.光學顯微鏡下特徵　b.偏光顯微鏡下特徵

1.草酸鈣砂晶　2.網紋導管 3.纖維束 4.纖維 5.木栓細胞

參考文獻

1. 行政院衛生署中華藥典中藥集編修小組編輯（2004）。中華中藥典第一版。台北市：行政院衛生署。20 頁。
2. 張永勳、何玉玲等編輯（2009）。中藥彩色圖鑑。台北：行政院衛生署中醫藥委員會。17–18 頁。
3. 張永勳、何玉玲總編輯（2013）。臺灣中藥典圖鑑。台北：衛生福利部。22 頁。
4. 張賢哲、蔡貴花編著（2010）。中藥炮製學。台中：中國醫藥大學。164–166 頁。
5. 肖培根等編輯（2001）。新編中藥志第一卷。北京：化學工業出版社。117–120 頁。
6. 中國藥品生物製品檢定所、廣東省藥品檢驗所編著（2011）。中國中藥材真偽鑑別圖典 2：常用根及根莖藥材分冊。廣東：廣東科技出版社。27–28 頁。
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編製（2005）。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。314–323 頁。
8. 文瑞良主編（2001）。中藥材彩色顯微圖鑑。北京：中國醫藥科技出版社。41–42 頁。
9. 徐國鈞、何宏賢、徐珞珊、金蓉鸞等編輯（1996）。中國藥材學上冊。北京：中國醫藥科技出版社。143–146 頁。
10. 國家中醫藥管理局《中華本草》編委會編輯（1999）。中華本草第 2 冊。上海：上海科學技術出版社。858–860 頁。
11. 國家藥典委員會（2009）。中華人民共和國藥典中藥材顯微鑒別彩色圖鑒。北京：人民衛生出版社。80 頁。
12. 國家藥典委員會編輯（2010）。中華人民共和國藥典 2010 年版一部。北京：中國醫藥科技出版社。35–36 頁。
13. 趙中振、陳虎彪等編著（2010）。常用中藥材鑑別圖典。香港：萬里機構・萬里書店。68 頁。
14. 趙中振、陳虎彪編著（2016）。中藥顯微鑑定圖典。福州：海峽出版發行集團・福建科學技術出版社。44–45 頁。

川牛膝(CYATHULAE RADIX)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店川牛膝藥材共 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)、Quat Pump (G1311A)、DAD (G1315B)、Autosampler (G1329A)，Column Oven H-650 (Chrom Tech, TNC.)；層析管柱 COSMOSIL $5C_{18}$-AR-II 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、Sampler 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(99.9%)購自於 Merck；乙醇(95%)購自於國韶實業有限公司。

（二）標準品

標準品杯蕒甾酮(Cyasterone)購自於昇漢科技有限公司，純度 98%以上。

四、方法

（一）最佳萃取溶媒評估

取本品粉末 6 份，每份準確稱取 1.0 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%乙醇各 10 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，離心 5 分鐘(約 4000 × *g*)，以 No.1 濾紙過濾至 10 mL 之定量瓶中，加入溶媒至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.45 μm)，取濾液，即得。每針 10 μL 注入 HPLC，以所測得每克重量之標準品杯蕒甾酮最大波峰面積為最佳川牛膝萃取溶媒。

（二）最佳萃取次數評估

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 1.0 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 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，離心 5 分鐘(約 4000 × *g*)，以 No.1 濾紙過濾，取濾液轉移至 10 mL 之定量瓶中，加入 75%甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syring filter，PTFE 0.45 μm)，取濾液，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

準確稱取標準品杯蒐甾酮 1.5 mg，加 10 mL 甲醇製成每 1 mL 含 150 μg 杯蒐甾酮的標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至 20 μg/mL 製成對照標準品溶液。

（四）檢品溶液

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 1.0 g，置 50 mL 離心管中，加入 75%甲醇 12.5 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，離心 5 分鐘(約 4000 × *g*)，以 No.1 濾紙過濾，取濾液，殘渣部分重複提取 1 次，合併濾液，轉移至 25 mL 之定量瓶中，加入 75%甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.45 μm)，即得。

（五）測定法

分別準確吸取標準品溶液、檢品溶液各 10 μL，注入 HPLC，測定，用標準曲線計算溶液中杯蒐甾酮的含量，即得。

（六）檢量線

準確吸取杯蒐甾酮標準品儲備溶液適量(150 μg/mL)，以甲醇稀釋製成含杯蒐甾酮分別為 50、30、20、7.5、5.0、3.0 μg/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

以杯蒐甾酮濃度為 20 μg/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以杯蒐甾酮波峰面積為指標，求出相對標準差。

（八）重複性與穩定性試驗

1. 重複性：取同一批市售川牛膝粉末，依川牛膝檢品溶液製備方法平行製備 5 份川牛膝檢品溶液，進樣測定，以杯蒐甾酮的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售川牛膝粉末，依川牛膝檢品溶液製備方法製備川牛膝檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以杯蒐甾酮的波峰面積為指標，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，並以訊號雜訊比為≧3:1 時之濃度，作為偵測極限估計值。
2. 定量極限(Limit of Quantitation, LOQ)：將已知濃度之標準品溶液不斷稀釋，並以訊號雜訊比為≧10:1 時之濃度，作為定量極限估計值。

（十）添加回收率試驗

取已知杯苨甾酮含量的川牛膝材料粉末 5 份，每份準確稱取約 0.5 g，分別加入 0.2 mg 的杯苨甾酮，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 $5C_{18}$-AR-II Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：UV 246 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：30 ºC
5. 注入量：10 μL
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	水(%)
0	20	80
10	30	70
60	33	67

（十二）臺灣市售川牛膝含量測定

取 10 批市售川牛膝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 公式計算樣品杯苨甾酮的百分含量。

（十三）UPLC 層析條件

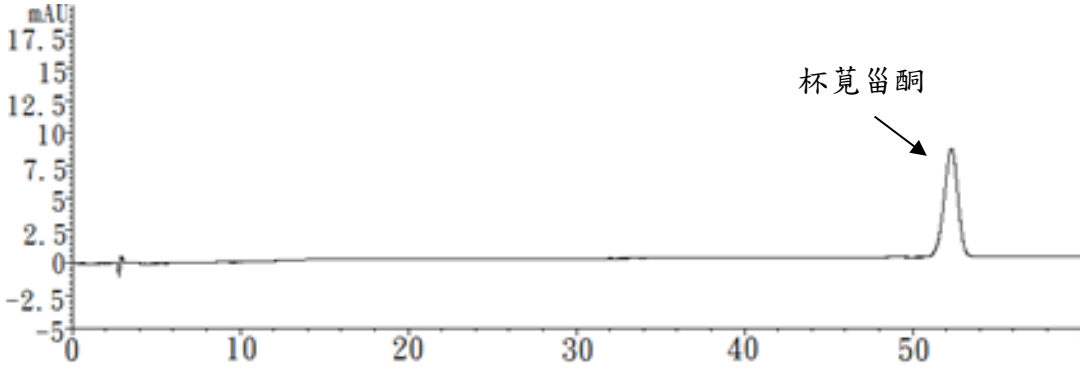
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：246 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 ºC
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	水(%)
0	10	90
1	15	85
3	34	66
10	34	66
12	45	55
15	45	55

五、結果

（一）標準品杯蒐甾酮之 HPLC 層析

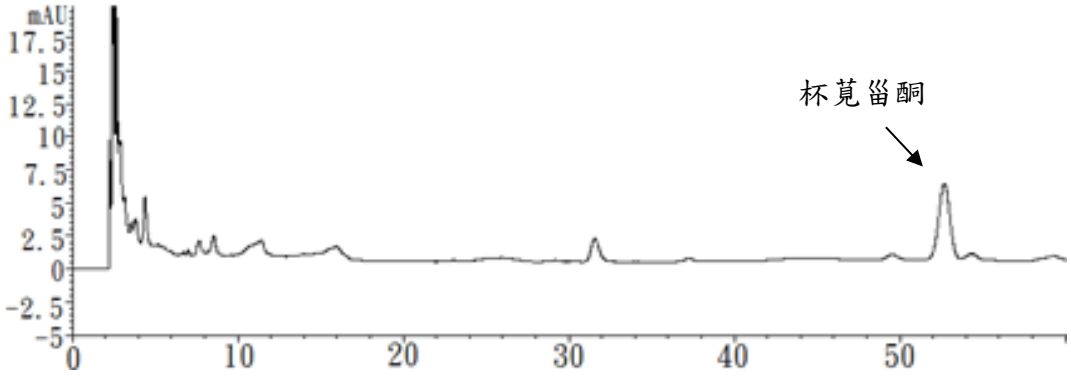
於滯留時間 51.5 分鐘處顯示杯蒐甾酮標準品波峰(圖一)。



圖一、杯蒐甾酮標準品溶液之 HPLC 層析圖

（二）市售川牛膝檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 51.7 分鐘處顯示川牛膝檢品中杯蒐甾酮波峰(圖二)。分離率(*R*)為 1.5，托尾因子(*T*)為 1.00，均在系統適用性要求內。



圖二、市售川牛膝檢品之 HPLC 層析圖

（三）最佳萃取溶媒評估

以 75%甲醇為溶媒時，每克藥材重量所得杯蒄甾酮的波峰面積最大，顯示 75%甲醇為最佳萃取溶媒。

表一、不同溶媒萃取比較

溶媒	波峰面積	最佳萃取
甲醇	441.35	
75%甲醇	542.71	√
50%甲醇	348.63	
乙醇	366.28	
75%乙醇	374.97	
50%乙醇	135.38	

（四）最佳萃取次數評估

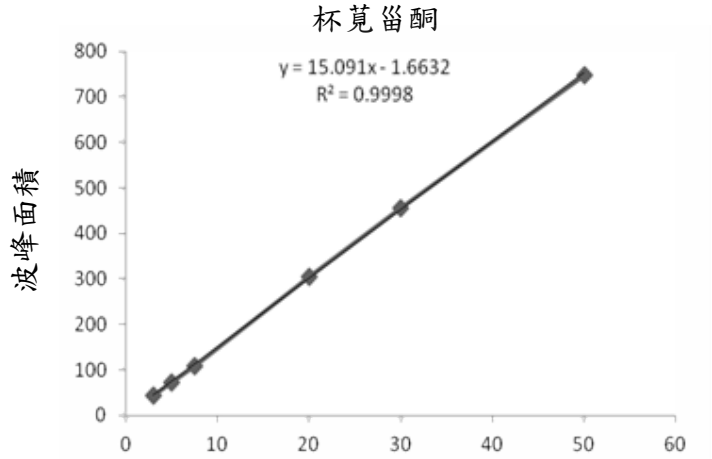
結果顯示萃取 2 次基本上已將杯蒄甾酮萃取完全(萃取率大於 98%)。

表二、川牛膝檢品萃取次數評估

75%甲醇萃取次數	杯蒄甾酮波峰面積
第 1 次	564.1
第 2 次	125.2
第 3 次	N.D.

（五）標準品杯蒁甾酮檢量線

經不同濃度杯蒁甾酮(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 = 15.091x – 1.6632，R^2 = 0.9998，顯示濃度在 3.0–50 μg/mL 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、杯蒁甾酮之檢量線圖

表三、杯蒁甾酮之檢量線方程式

對照標準品	濃度(μg/mL)	線性回歸方程式	R^2
杯蒁甾酮	3.0–50	y = 15.091x – 1.6632	0.9998

（六）精密度試驗

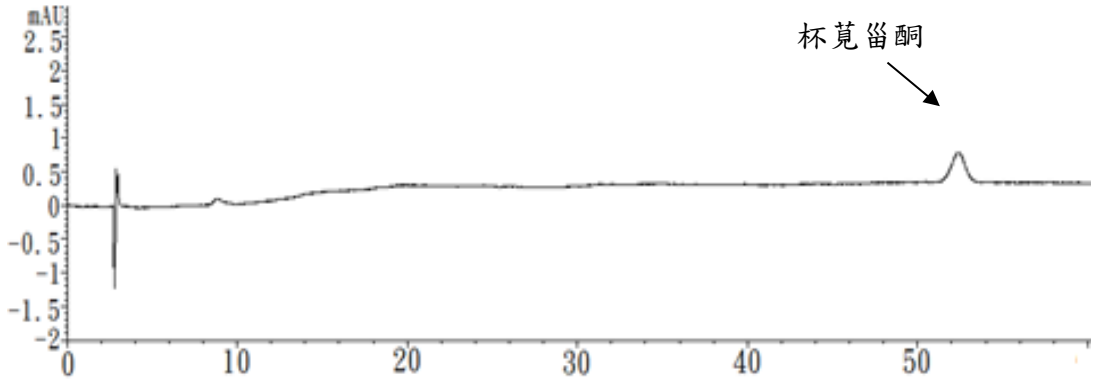
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，杯蒁甾酮精密度之相對標準差為 1.98%，在系統適用性要求內。

（七）重複性與穩定性試驗

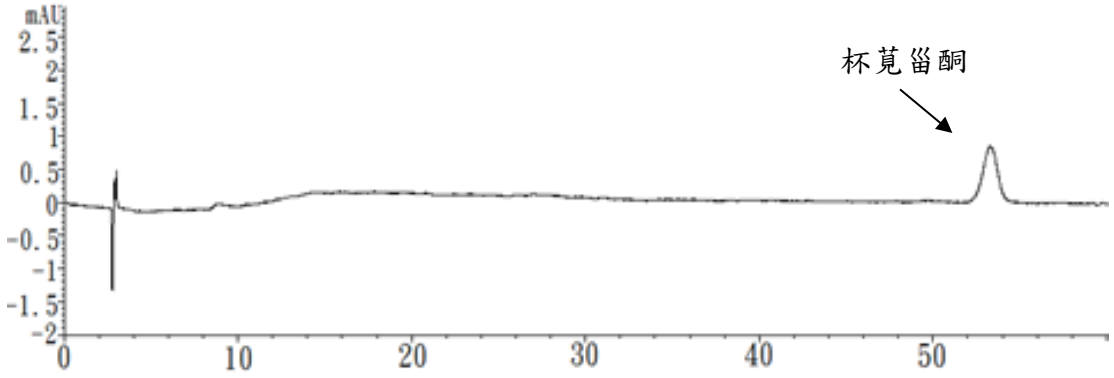
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，杯蒁甾酮重複性之相對標準差為 2.92%，在系統適用性要求內。杯蒁甾酮在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準差為 0.90%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

（八）偵測極限與定量極限試驗

杯蒁甾酮偵測極限為 1.5 μg/mL (圖四)，定量極限為 3.0 μg/mL (圖五) 。



圖四、杯蒈甾酮之偵測極限層析圖



圖五、杯蒈甾酮之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	杯蒈甾酮	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	20 μg/mL	1.98
重複性 (n=5)	檢品溶液 (No.6)	2.92
穩定性 (n=6)	檢品溶液 (No.6)	0.90
偵測極限 (n=1)	1.5 μg/mL	-
定量極限 (n=1)	3.0 μg/mL	-

（九）添加回收率試驗

杯蒐甾酮平均添加回收率為 106.3%，相對標準偏差為 1.35%。

表五、杯蒐甾酮添加回收率

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	0.501	0.234	0.2	0.442	104.00	106.30	1.35
2	0.501	0.234	0.2	0.447	106.50		
3	0.501	0.234	0.2	0.445	105.50		
4	0.501	0.234	0.2	0.449	107.50		
5	0.501	0.234	0.2	0.450	108.00		

（十）臺灣市售川牛膝含量測定

10 批川牛膝藥材之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，杯蒐甾酮的含量為 0.042–0.055%。建議川牛膝藥材指標成分杯蒐甾酮的含量不得少於 0.03%。理論板數按杯蒐甾酮波峰計算應不低於 8000 (實際值為 25000)。

表六、臺灣市售川牛膝檢品之杯蒐甾酮含量

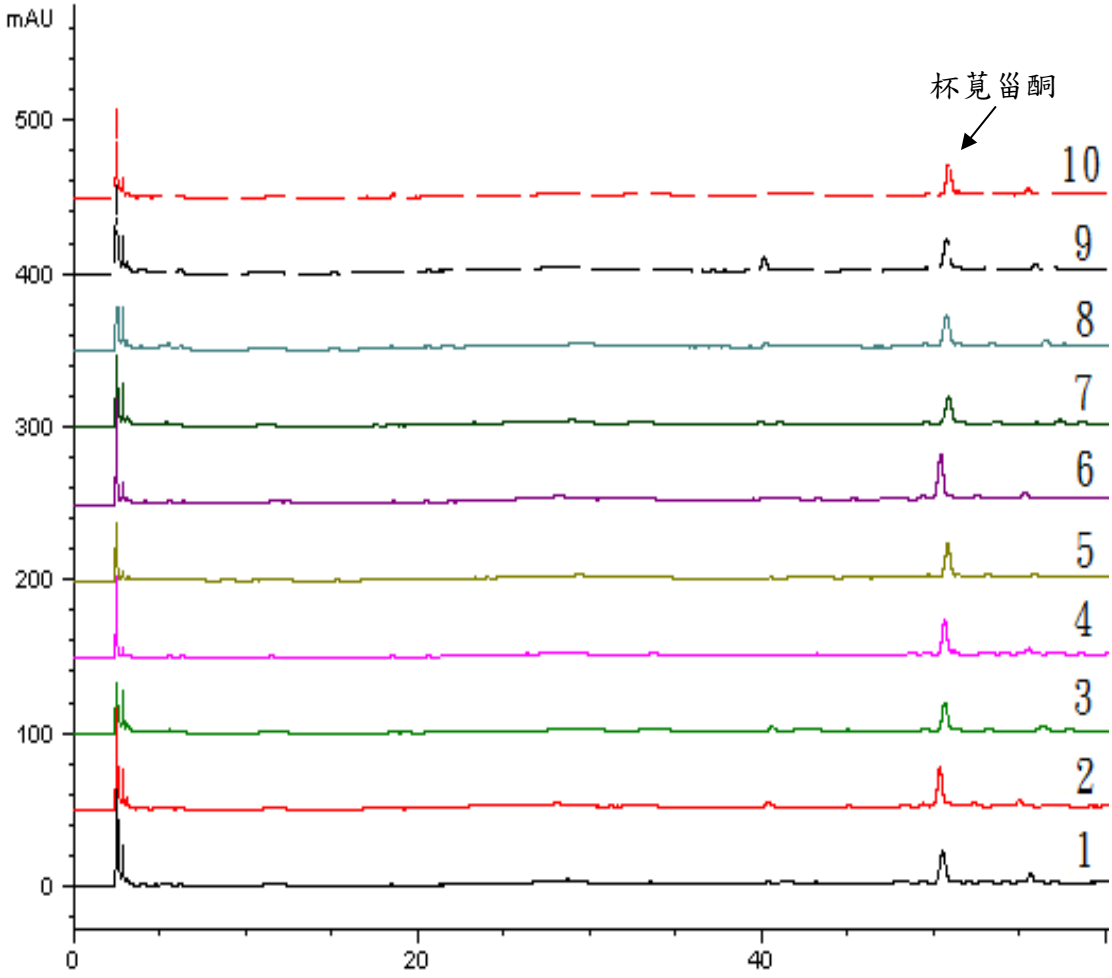
藥材編號(No.)	杯蒐甾酮含量(%)	藥材編號(No.)	杯蒐甾酮含量(%)
1 (NB)	0.047	6 (NL)	0.053
2 (NF)	0.054	7 (NM)	0.053
3 (NI)	0.051	8 (CA)	0.055
4 (NJ)	0.045	9 (SL)	0.050
5 (NK)	0.049	10 (SL-1)	0.042

（十一）川牛膝藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售川牛膝檢品溶液各 10 μL 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：COSMOSIL 5C_{18}-AR-II Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：UV 246 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：30 ºC
5. 注入量：10 μL
6. 移動相：

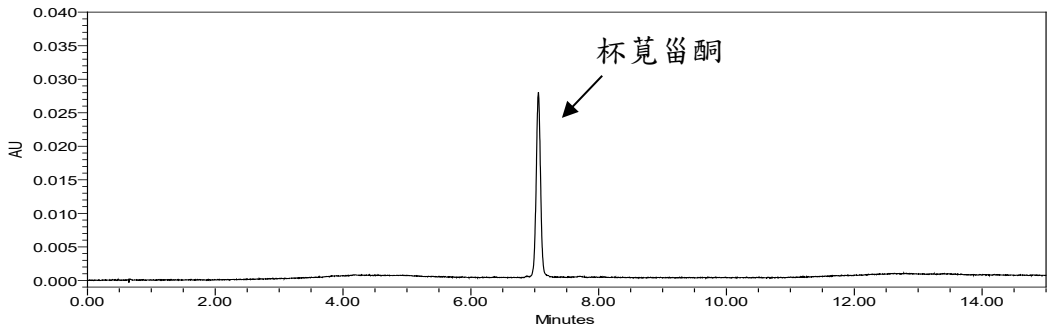
時間(min)	甲醇(%)	水(%)
0	5	95
10	5	95
20	30	70
60	80	20



圖六、10 批川牛膝藥材之 HPLC 指紋圖譜

（十二）標準品杯蒿甾酮之 UPLC 層析

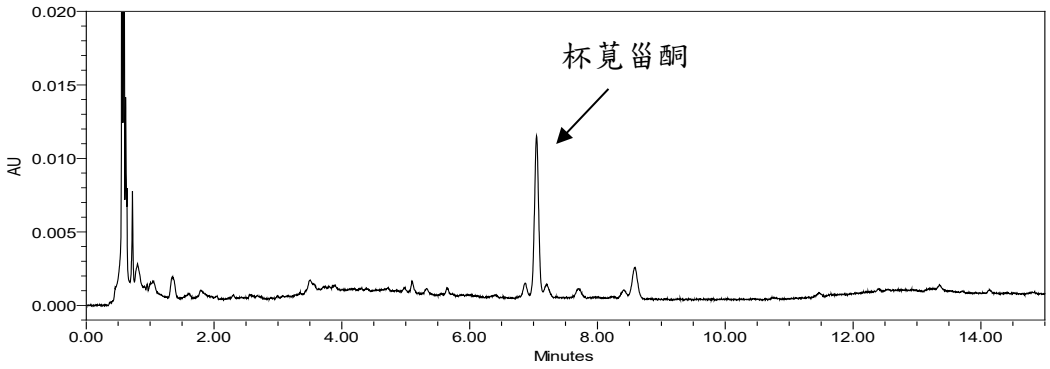
於滯留時間 7.05 分鐘處顯示杯蒿甾酮標準品的波峰(圖七)。



圖七、杯蒿甾酮標準品溶液之 UPLC 層析圖

（十三）市售川牛膝檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 7.04 分鐘處顯示川牛膝檢品中杯蒿甾酮的波峰(圖八)。

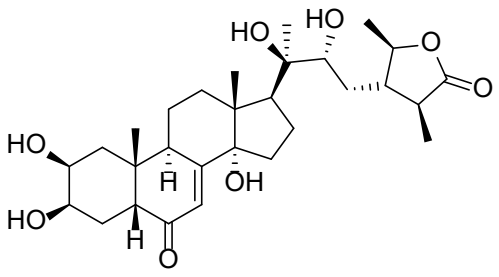


圖八、市售川牛膝檢品之 UPLC 層析圖

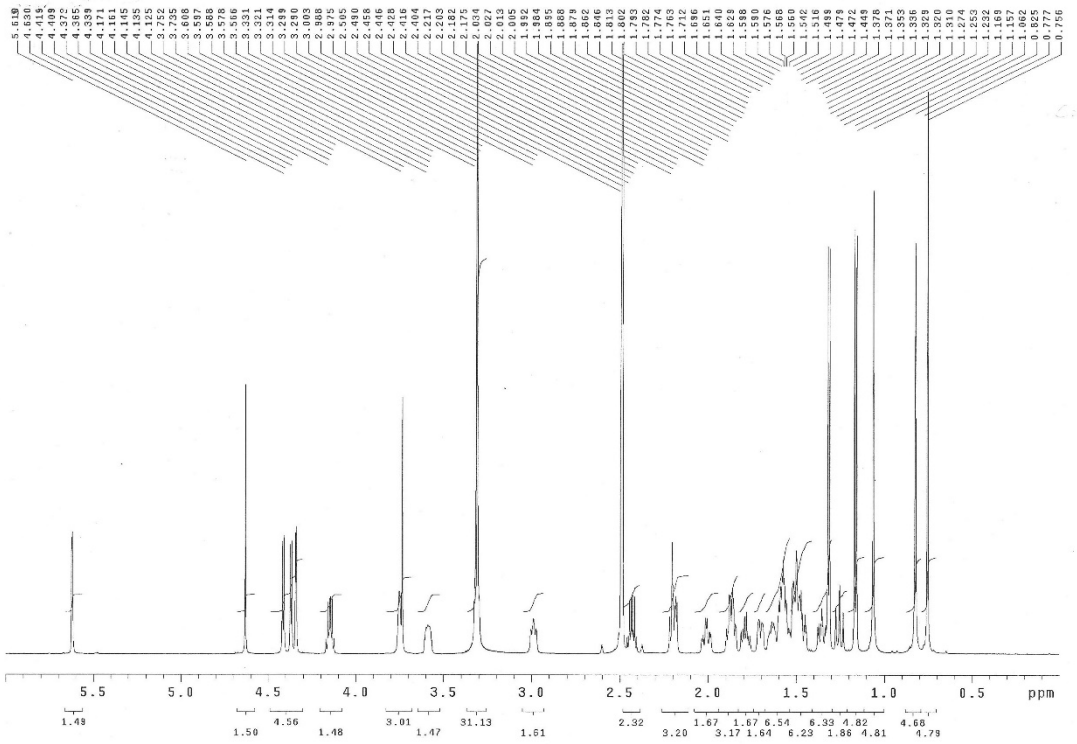
（十四）杯蒿甾酮的分子式、分子量與熔點

分子式：$C_{29}H_{44}O_8$；分子量：520.65；熔點：164–166 ºC；白色粉狀。

（十五）杯蒿甾酮的結構

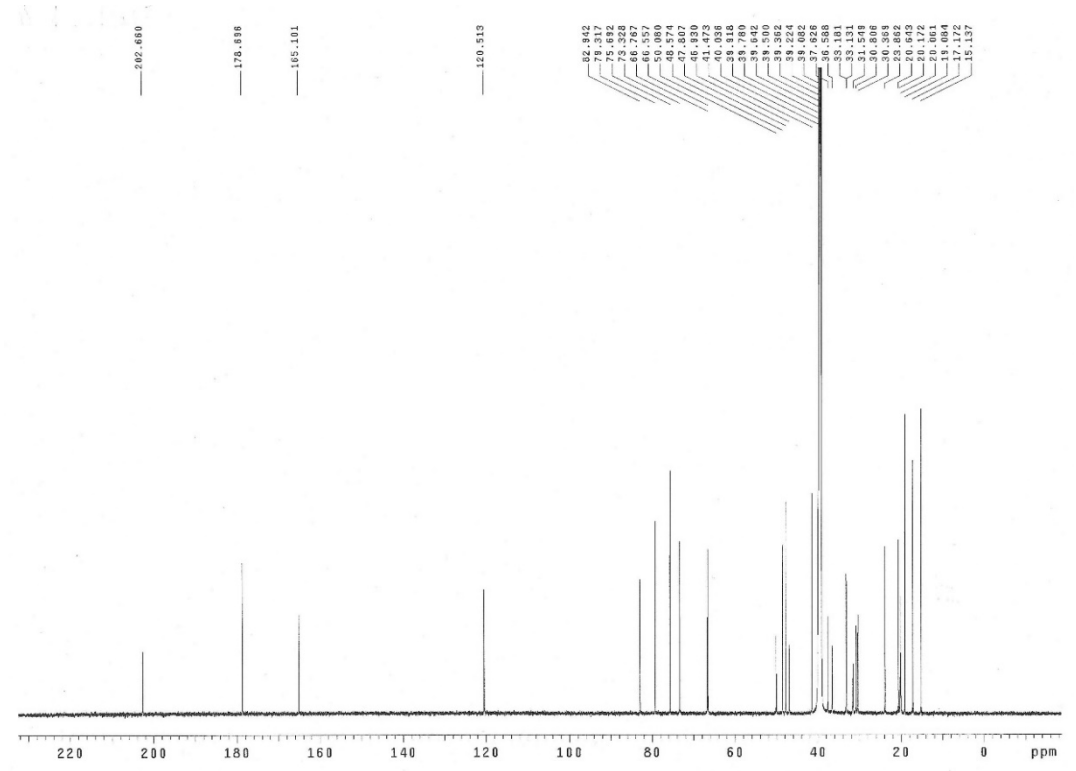


（十六）杯蒾甾酮的 ^{1}H NMR 圖譜



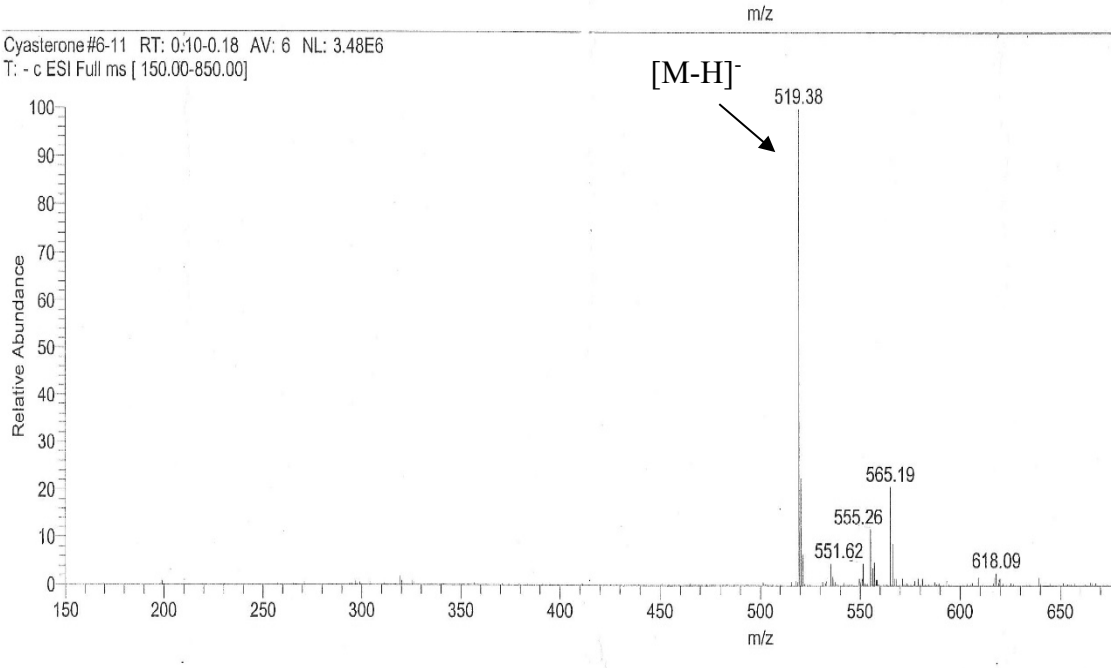
圖九、杯蒾甾酮的 ^{1}H NMR 圖譜(DMSO-d_6)

（十七）杯蒾甾酮的 ^{13}C NMR 圖譜



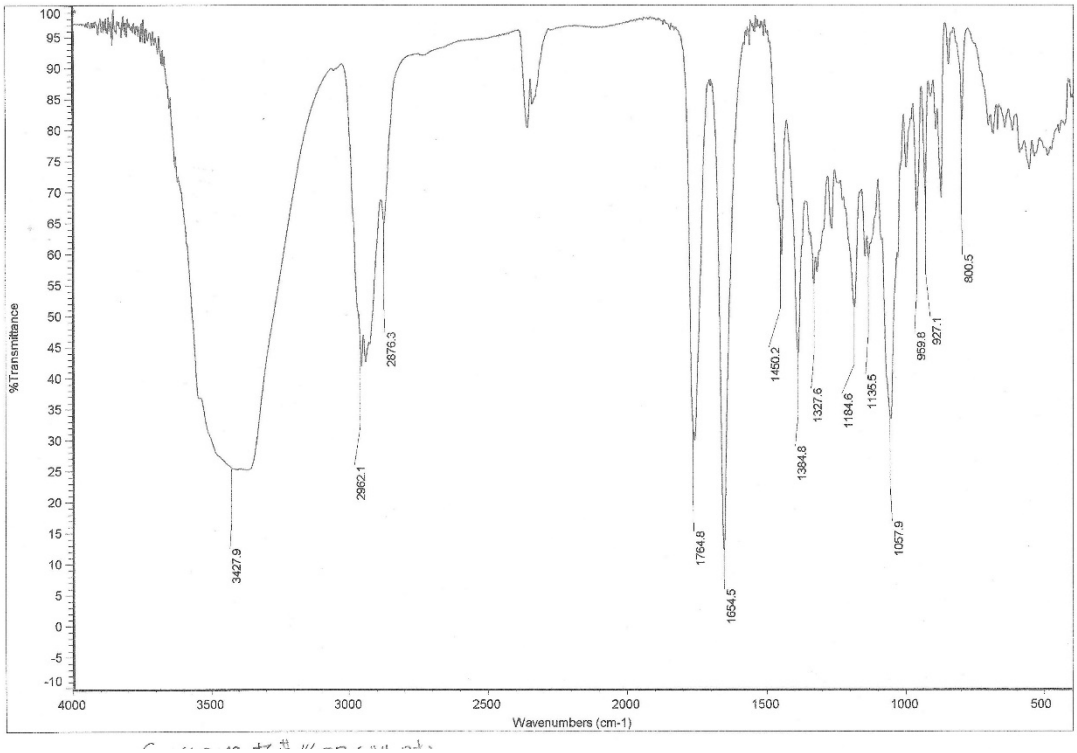
圖十、杯蒾甾酮的 ^{13}C NMR 圖譜(DMSO-d_6)

（十八）杯蒿甾酮的 ESI-MS 圖譜



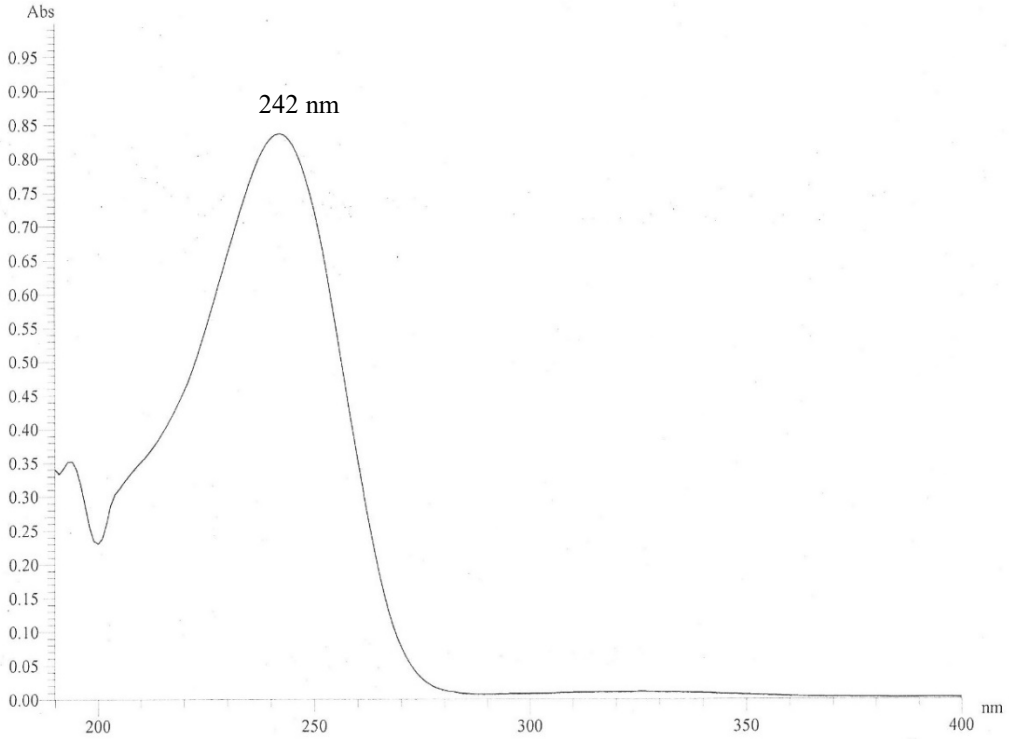
圖十一、杯蒿甾酮的 ESI-MS 圖譜

（十九）杯蒿甾酮的 FTIR 圖譜



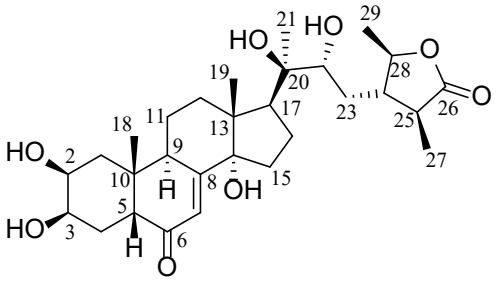
圖十二、杯蒿甾酮的 FTIR 圖譜

（二十）杯蒾甾酮的 UV 圖譜



圖十三、杯蒾甾酮的 UV 圖譜

（二十一）杯蒾甾酮的氫、碳化學位移



杯蒾甾酮

表七、杯蒾甾酮的氫、碳化學位移(DMSO-d_6)[a]

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1	1.26 (t, 12.6), 1.58 (m)	36.6
2	3.58 (m)	66.8
3	3.75 (m)	66.6
4	1.45 (t, 3.6), 1.58 (m)	31.5
5	2.18 (m)	50.1
6	-	202.7
7	5.62 (s)	120.5
8	-	165.1

9	2.99 (t, 8.4)	33.1
10	-	37.6
11	1.47 (m), 1.64 (m)	20.1
12	1.70 (m), 2.02 (m)	30.8
13	-	46.9
14	-	82.9
15	1.50 (m), 1.81 (m)	30.4
16	1.87 (m)	20.2
17	2.20 (m)	48.6
18	0.83 (s)	23.9
19	0.76 (s)	17.2
20	-	75.7
21	1.06 (s)	20.6
22	3.32 (m)	73.3
23	1.36 (m), 1.52 (m)	33.2
24	1.87 (m)	47.8
25	2.43 (m)	41.5
26	-	178.7
27	1.16 (d, 7.2)	15.1
28	4.15 (m)	79.3
29	1.31 (d, 6.0)	19.1
2-OH	4.41 (d, 6.0)	-
3-OH	4.34 (d, 3.0)	-
14-OH	4.63 (s)	-
20-OH	3.74 (s)	-
22-OH	4.37 (d, 4.8)	-

[a](Multiplicity, *J* in Hz) in ppm.

川牛膝飲片(CYATHULAE RADIX)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店川牛膝飲片共 13 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)、Quat Pump (G1311A)、DAD (G1315B)、Autosampler (G1329A)，Column Oven H-650 (Chrom Tech, TNC.)；層析管柱 COSMOSIL 5C_{18}-AR-II 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(99.9%)購自於 Merck。

（二）標準品

標準品杯蕳甾酮(Cyasterone)購自於昇漢科技有限公司，純度 98%以上。

四、方法

（一）最佳萃取溶媒評估

川牛膝飲片最佳萃取溶媒同川牛膝藥材。

（二）最佳萃取次數評估

川牛膝飲片最佳萃取次數同川牛膝藥材。

（三）對照標準品溶液

準確稱取標準品杯蕳甾酮 1.5 mg，加 10 mL 的甲醇製成每 1 mL 含杯蕳甾酮 150 μg 的標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至 20 μg/mL 製成對照標準品溶液。

（四）檢品溶液

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 1.0 g，置 50 mL 離心管中，準確加入 75%甲醇 12.5 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，離心 5 分鐘(約 4000 × *g*)，以 No.1 濾紙過濾，取濾液，殘渣部分重複提取 1 次，合併濾液，轉移至 25 mL 之定量瓶中，加 75%甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.45 μm)，即得。

（五）測定法

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杯蒿甾酮的含量，即得。

（六）檢量線

準確吸取杯蒿甾酮標準品儲備溶液適量(150 μg/mL)，以甲醇稀釋製成含杯蒿甾酮分別為 50、30、20、15、7.5、5.0 μg/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

以杯蒿甾酮濃度為 20 μg/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以杯蒿甾酮的波峰面積為指標，求出相對標準差。

（八）重複性與穩定性試驗

1. 重複性：取同一批市售川牛膝飲片粉末，依川牛膝飲片檢品溶液製備方法平行製備 5 份川牛膝飲片檢品溶液，進樣測定，以杯蒿甾酮的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售川牛膝飲片粉末，依川牛膝飲片檢品溶液製備方法製備川牛膝飲片檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以杯蒿甾酮的波峰面積為指標，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，並以訊號雜訊比為≧3:1 時之濃度，作為偵測極限估計值。
2. 定量極限(limit of quantitation, LOQ)：將已知濃度之標準品溶液不斷稀釋，並以訊號雜訊比為≧10:1 時之濃度，作為定量極限估計值。

（十）添加回收率試驗

取已知杯蒿甾酮含量的川牛膝飲片粉末 5 份，每份準確稱取約 0.5 g，分分別加入 0.2 mg 的杯蒿甾酮，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 5C_{18}-AR-II Column (250 x 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：UV 246 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：30 ºC
5. 注入量：10 μL
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	水(%)
0	20	80
10	30	70
60	33	67

（十二）臺灣市售川牛膝飲片含量測定

取 10 批市售川牛膝飲片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 公式計算樣品杯蒄甾酮的百分含量。

（十三）川牛膝飲片檢品之 UPLC 層析條件

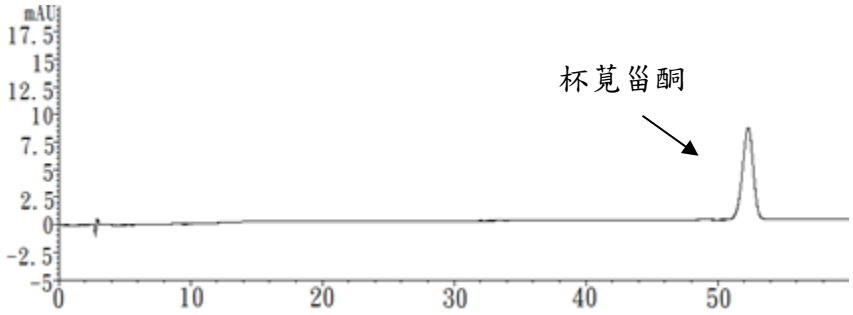
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 246 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 ºC
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	水(%)
0	10	90
1	15	85
3	34	66
10	34	66
12	45	55
15	45	55

五、結果

（一）標準品杯蒐甾酮之 HPLC 層析

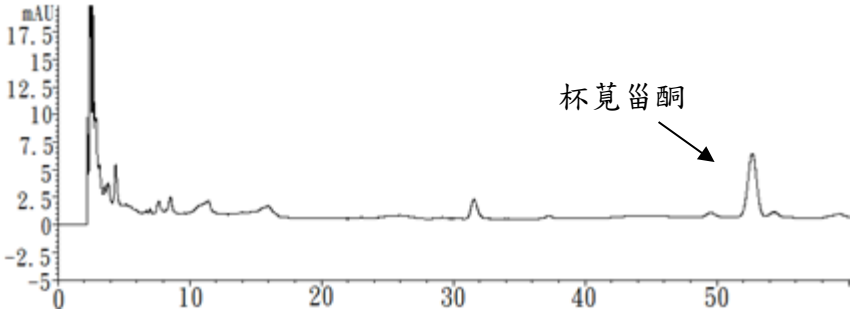
於滯留時間 52.2 分鐘處顯示杯蒐甾酮標準品波峰(圖一)。



圖一、杯蒐甾酮標準品溶液之 HPLC 層析圖

（二）市售川牛膝飲片檢品之 HPLC 層析

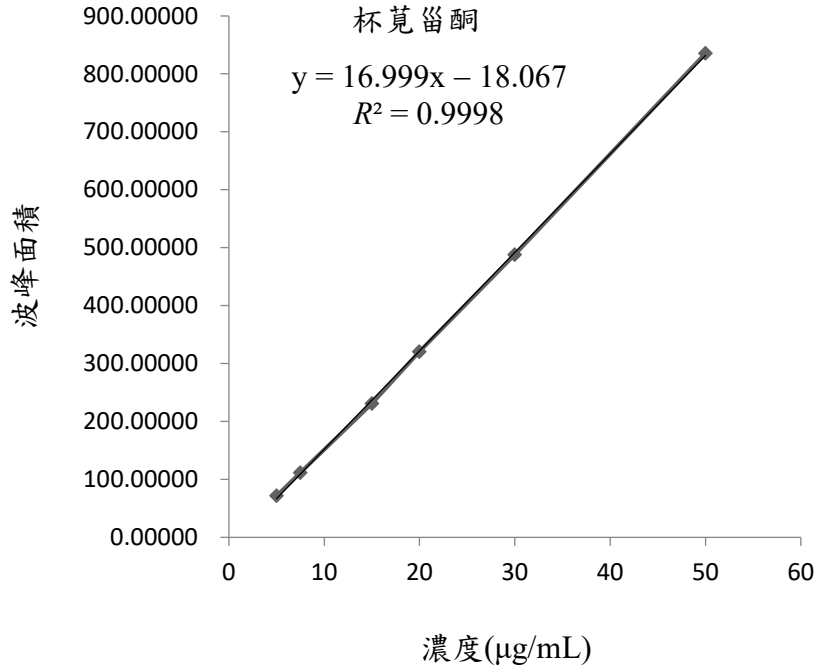
於滯留時間 52.1 分鐘處顯示川牛膝飲片檢品中杯蒐甾酮波峰(圖二)。分離率(*R*)為 1.5，托尾因子(*T*)為 1.01，均在系統適用性要求內。



圖二、市售川牛膝飲片檢品之 HPLC 層析圖

（三）標準品杯萸甾酮檢量線

經不同濃度杯萸甾酮(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 = 16.999x – 18.067，R^2 = 0.9998，顯示濃度在 5.0–50 μg/mL 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、杯萸甾酮之檢量線圖

表一、杯萸甾酮之檢量線方程式

對照標準品	濃度(μg/mL)	線性回歸方程式	R^2
杯萸甾酮	5.0–50	y = 16.999x – 18.067	0.9998

（四）精密度試驗

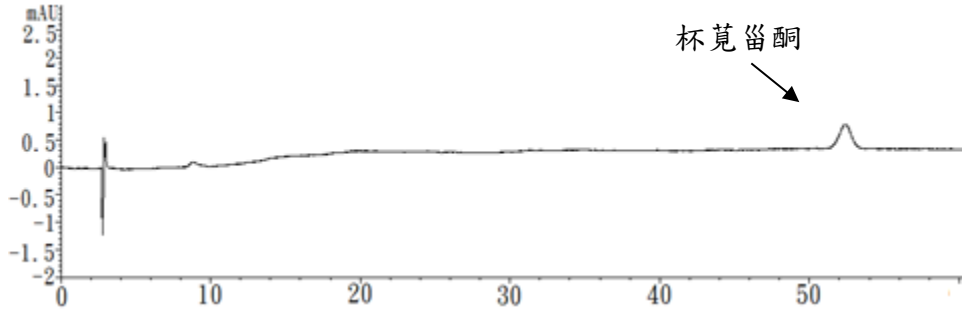
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，杯萸甾酮精密度之相對標準差為 1.52%，在系統適用性要求內。

（五）重複性與穩定性試驗

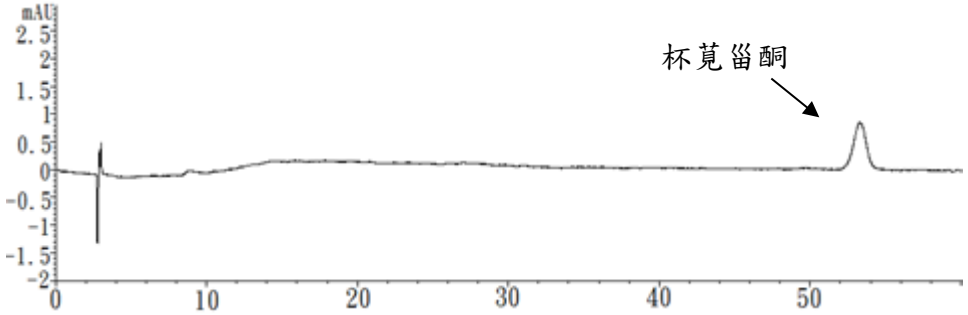
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，杯萸甾酮重複性之相對標準差為 2.60%，在系統適用性要求內。杯萸甾酮在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準差為 0.85%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

（六）偵測極限與定量極限試驗

杯蒈甾酮偵測極限為 1.5 μg/mL(圖四)，定量極限為 3.0 μg/mL(圖五)。



圖四、杯蒈甾酮之偵測極限層析圖



圖五、杯蒈甾酮之定量極限層析圖

表二、各項檢驗分析

檢測項目	杯蒈甾酮	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	20 μg/mL	1.52
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.8)	2.60
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.8)	0.85
偵測極限 (n=1)	1.5 μg/mL	-
定量極限 (n=1)	3.0 μg/mL	-

（七）添加回收率試驗

杯蒐甾酮平均添加回收率為 101.6%，相對標準偏差為 1.22%。

表三、杯蒐甾酮酮添加回收率

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	0.501	0.214	0.20	0.416	101.00	101.60	1.22
2	0.500	0.214	0.20	0.421	103.50		
3	0.501	0.214	0.20	0.419	102.50		
4	0.501	0.214	0.20	0.414	100.00		
5	0.501	0.214	0.20	0.416	101.00		

（八）臺灣市售川牛膝飲片含量測定

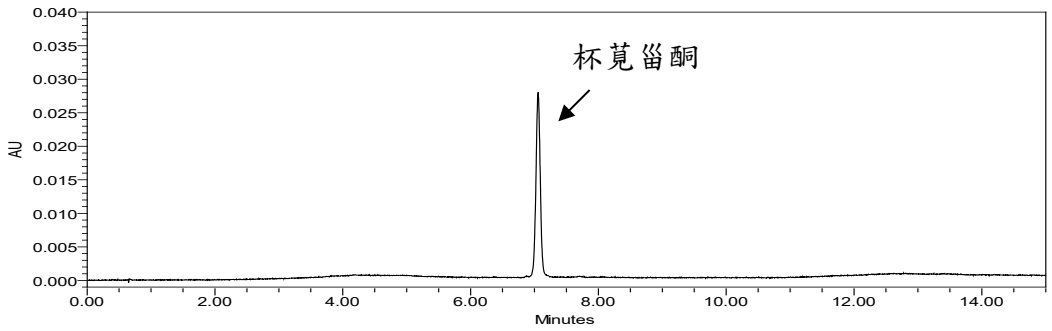
13 批川牛膝飲片之含量測定結果(乾燥品)如表四所示，杯蒐甾酮的含量為 0.040–0.053%。建議川牛膝飲片指標成分杯蒐甾酮的含量不得少於 0.03%。理論板數按杯蒐甾酮波峰計算應不低於 8000 (實際值為 25000)。

表四、臺灣市售川牛膝飲片檢品之杯蒐甾酮含量

藥材編號(No.)	杯蒐甾酮含量(%)	藥材編號(No.)	杯蒐甾酮含量(%)
1 (NB)	0.045	8 (SE)	0.048
2 (NC)	0.044	9 (SL)	0.047
3 (NF)	0.050	10 (CA)	0.052
4 (NH)	0.040	11 (NSTC)	0.053
5 (NJ)	0.042	12 (NKOD)	0.047
6 (NK)	0.047	13 (SCSZ)	0.050
7 (NP)	0.041		

（九）標準品杯蒿甾酮之 UPLC 層析

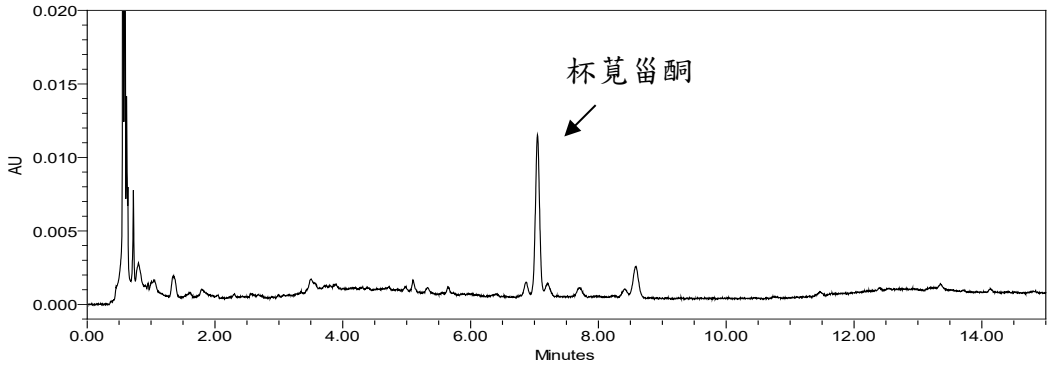
於滯留時間 7.05 分鐘處顯示杯蒿甾酮標準品的波峰(圖六)



圖六、杯蒿甾酮標準品溶液之 UPLC 層析圖

（十）市售川牛膝飲片檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 7.04 分鐘處顯示川牛膝飲片檢品中杯蒿甾酮的波峰(圖七)。



圖七、市售川牛膝飲片檢品之 UPLC 層析圖

川牛膝

生藥名：CYATHULAE RADIX

英文名：Cyathula Root

基　原：本品為莧科 Amaranthaceae 植物川牛膝 *Cyathula officinalis* K.C.Kuan 之乾燥根，臺灣市售稱「杜牛膝」。

一、方法

(一)	檢品溶液	【萃取方法 1】(臺灣中藥典第三版初稿 2018；香港中藥材標準第六冊) ✓ ──取本品粉末 2.0 g，加甲醇 20 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，作為檢品溶液。 【萃取方法 2】(修飾中華人民共和國藥典 2015) ──取本品粉末 2.0 g，加甲醇 50 mL，加熱迴流 1 小時，過濾，作為檢品溶液。
(二)	對照標準品溶液	取杯蕒甾酮(Cyasterone)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 F_{254}，10 cm × 10 cm、20 cm × 10 cm
(四)	展開劑	【展開劑 1】 (臺灣中藥典第三版初稿 2018；香港中藥材標準第六冊) ✓ ──正己烷：乙酸乙酯：甲醇：冰醋酸 (3：4：1.5：0.2) 【展開劑 2】 (修飾中華人民共和國藥典 2015) ──二氯甲烷：甲醇 (10：1)
(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	以 10%硫酸/乙醇試液(H_2SO_4/EtOH TS)噴霧後，105 ℃加熱至條帶顯色清晰，於主波長 365 nm 之紫外燈照射下檢視。

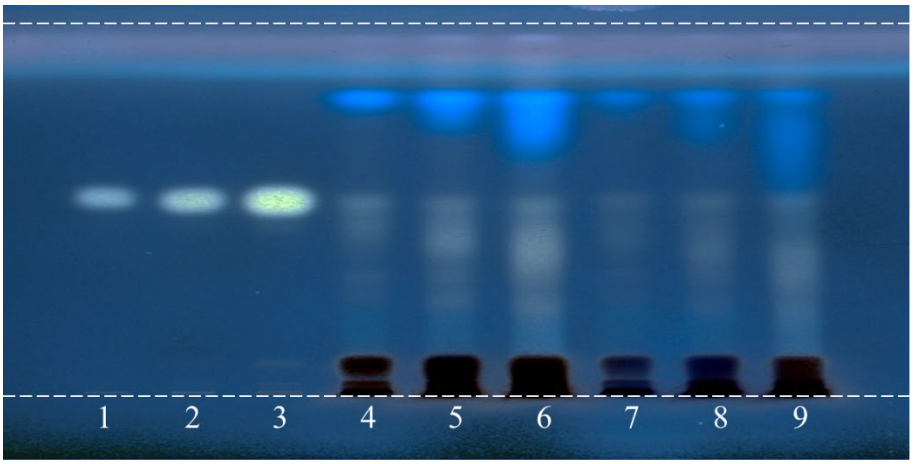
二、萃法選擇及濃度測試

實驗日期：107/09/05

相對溼度(RH)：65%

溫度(RT)：25 ℃

【展開劑 1】 (臺灣中藥典第三版 2018 初稿；香港中藥材標準第六冊)──正己烷：乙酸乙酯：甲醇：乙酸 (3：4：1.5：0.2)



編號	名稱	點注量
1，2，3	杯蒐甾酮(0.5 mg/mL)	1，2，5 μL
4，5，6	檢品溶液 5【萃取方法 1】	5，10，20 μL
7，8，9	檢品溶液 5【萃取方法 2】	5，10，20 μL

建議萃法：2 種萃法之檢品溶液中皆有分離與檢出標準品杯蒐甾酮，而由於製備方法較簡易快速，故選擇臺灣中藥典萃法【萃取方法 1】。

建議點注量：杯蒐甾酮標準品溶液 1 μL，檢品溶液【萃取方法 1】10 μL。

三、溶媒系統選擇

實驗日期：107/09/05

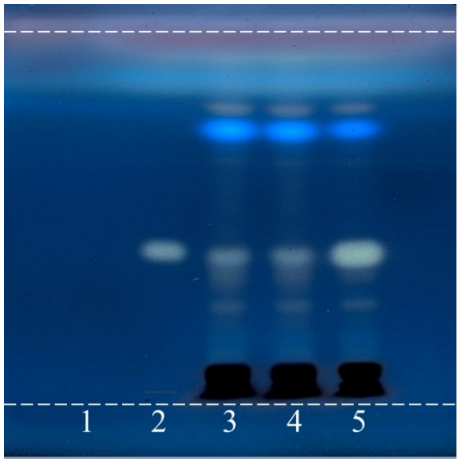
相對溼度(RH)：65%

溫度(RT)：25 ℃

【展開劑 1】 (臺灣中藥典第三版 2018 初稿)

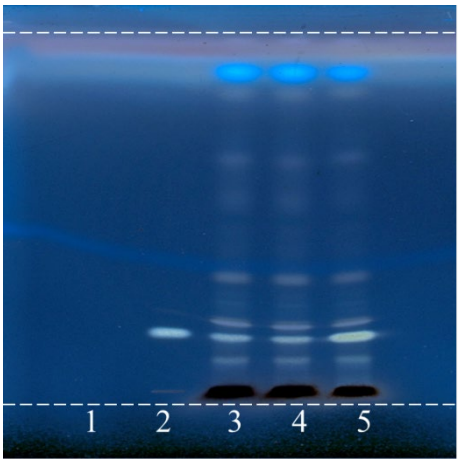
──正己烷：乙酸乙酯：甲醇：乙酸 (3：4：1.5：0.2)

【萃取方法 1】(臺灣中藥典第三版初稿 2018)──HPTLC 10%硫酸/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出(杯蒿甾酮 R_f 值為 0.46)



【展開劑 2】 (修飾中華人民共和國藥典 2015)──二氯甲烷：甲醇 (10：1)

【萃取方法 1】(臺灣中藥典第三版初稿 2018)──HPTLC 10%硫酸/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出(杯蒿甾酮 R_f 值為 0.16)



1：Blank

2：杯蒿甾酮

3，4：檢品溶液 5

5：Spike

建議溶媒系統：以臺灣中藥典第三版初稿 2018 萃取方式【萃取方法 1】，採用臺灣中藥典第三版初稿 2018 之溶媒系統【展開劑 1】展開。

四、觀察方式選擇

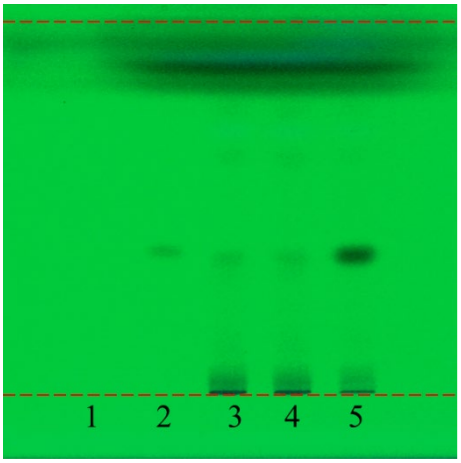
實驗日期：107/09/05

相對溼度(RH)：65%

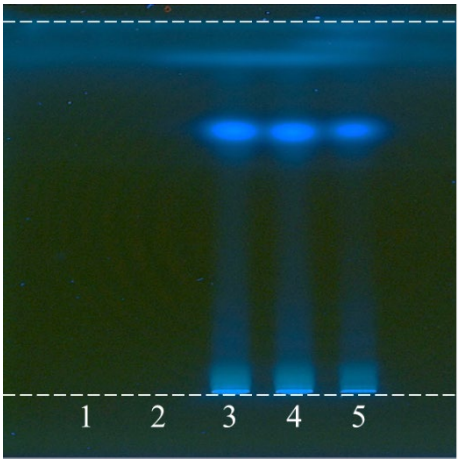
溫度(RT)：25 ℃

【展開劑 1】 (臺灣中藥典第三版初稿 2018)──正己烷：乙酸乙酯：甲醇：乙酸 (3：4：1.5：0.2)

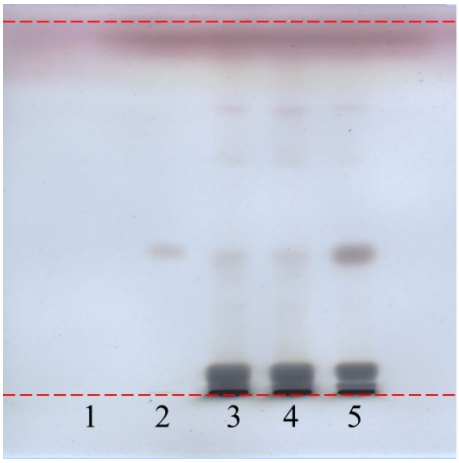
【萃取方法 1】(臺灣中藥典第三版初稿 2018)－HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



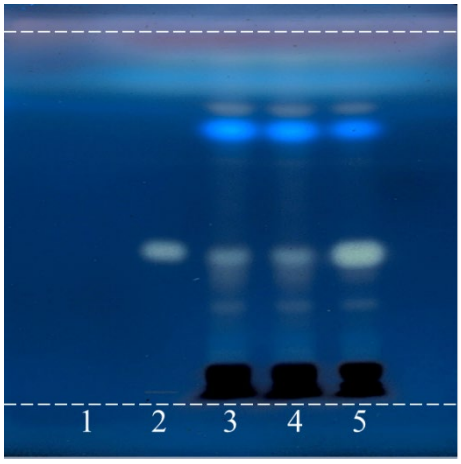
【萃取方法 1】(臺灣中藥典第三版初稿 2018)－HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



【萃取方法 1】(臺灣中藥典第三版初稿 2018)－HPTLC 顯色/可見光檢出



【萃取方法 1】(臺灣中藥典第三版初稿 2018)－HPTLC 顯色/紫外光(365 nm)檢出✓



1：Blank

2：杯蒾甾酮

3，4：檢品溶液 5

5：Spike

建議觀察方式：經 10%硫酸/乙醇顯色後，於紫外光(365 nm)檢視較其他觀察方式有較多明顯之條帶及杯蒾甾酮標準品斑點。

五、十批川牛膝藥材樣品檢測

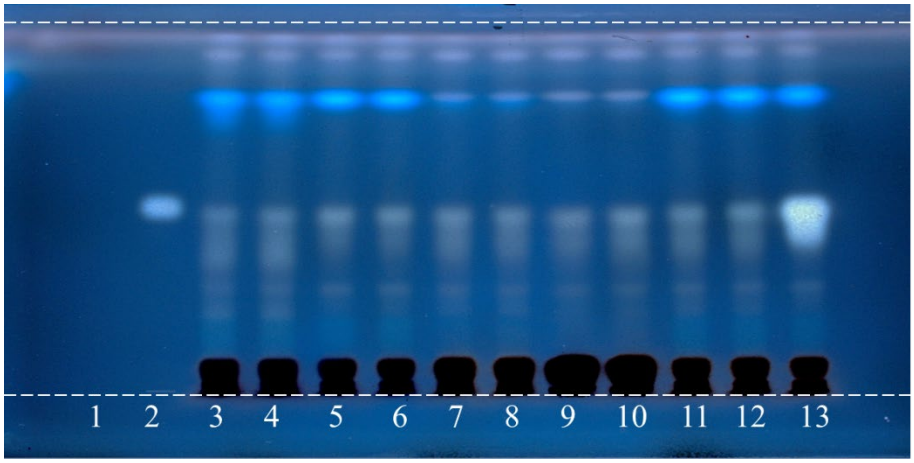
實驗日期：107/09/11

相對溼度(RH)：63%

溫度(RT)：24 ℃

【展開劑 1】 (臺灣中藥典第三版初稿 2018)──正己烷：乙酸乙酯：甲醇：乙酸 (3：4：1.5：0.2)

【萃取方法 1】(臺灣中藥典第三版初稿 2018)──HPTLC 10%硫酸/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出



1	Blank
2	杯蒿甾酮(0.5 mg/mL)
3，4	檢品溶液 1 (NB)
5，6	檢品溶液 2 (NF)
7，8	檢品溶液 3 (NI)
9，10	檢品溶液 4 (NJ)
11，12	檢品溶液 5 (NK)
13	Spike (檢品溶液 5)

1	Blank
2	杯萸甾酮(0.5 mg/mL)
3，4	檢品溶液 6 (NL)
5，6	檢品溶液 7 (NM)
7，8	檢品溶液 8 (CA)
9，10	檢品溶液 9 (SL)
11，12	檢品溶液 10 (SL-1)
13	Spike (檢品溶液 5)

結論與建議：以臺灣中藥典第三版之【萃取方法 1】方式，以臺灣中藥典第三版初稿 2018 之【展開劑 1】分離與檢出杯萸甾酮較佳，以 10%硫酸乙醇顯色後，於紫外光(365 nm)下檢視較佳。

川牛膝(飲片)

六、十批川牛膝飲片檢測

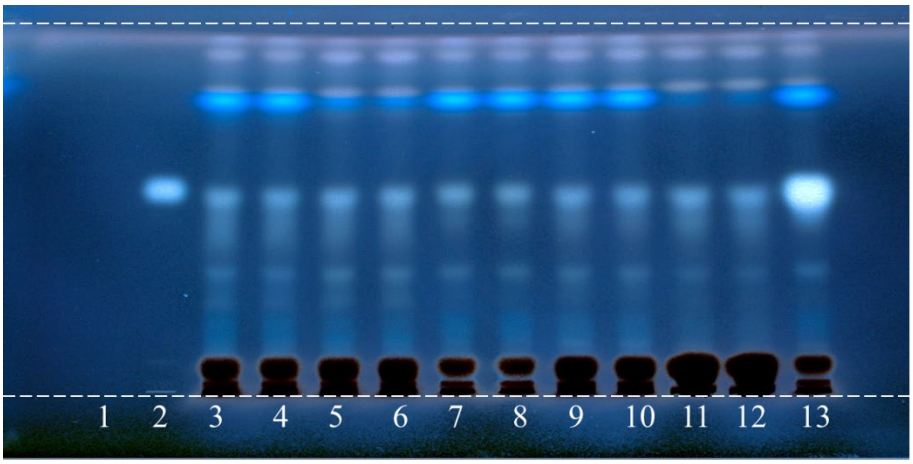
實驗日期：107/09/13

相對溼度(RH)：64%

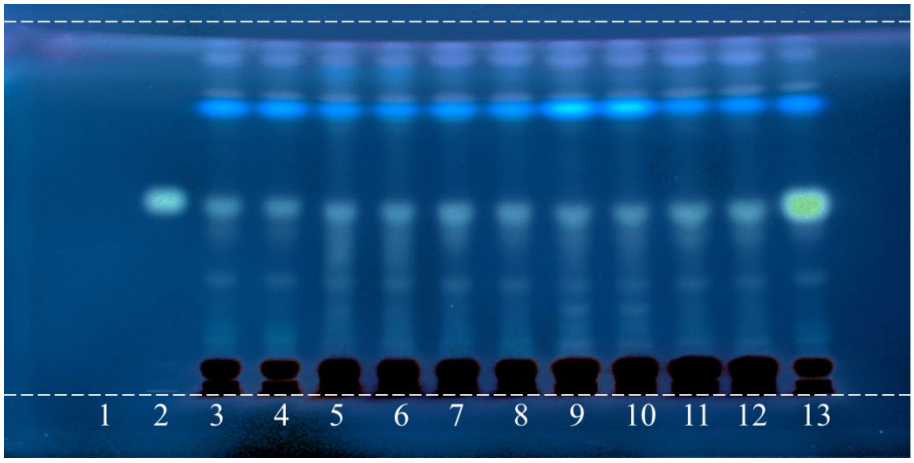
溫度(RT)：25 ℃

【展開劑 1】 (臺灣中藥典第三版初稿 2018)──正己烷：乙酸乙酯：甲醇：乙酸 (3：4：1.5：0.2)

【萃取方法 1】(臺灣中藥典第三版初稿 2018)──HPTLC 10%硫酸/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出



1	Blank
2	杯蒿甾酮(0.5 mg/mL)
3，4	檢品溶液 1 (NB-1)
5，6	檢品溶液 2 (NC)
7，8	檢品溶液 3 (NF-1)
9，10	檢品溶液 4 (NH)
11，12	檢品溶液 5 (NJ-1)
13	Spike (檢品溶液 6)



1	Blank
2	杯蒨甾酮(0.5 mg/mL)
3，4	檢品溶液 6 (NK-1)
5，6	檢品溶液 7 (NP)
7，8	檢品溶液 8 (SE)
9，10	檢品溶液 9 (SL-2)
11，12	檢品溶液 10 (CA-1)
13	Spike (檢品溶液 6)

結論與建議：飲片鑑別同藥材。