

苦參

(SOPHORAE FLAVESCENTIS RADIX)

苦參 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).....	3
四、藥材粉末顯微鑑別 (圖 3).....	3

苦參(藥材)HPLC

一、材料.....	8
二、儀器及層析管柱.....	8
三、實驗藥品及試劑來源.....	8
四、方法.....	8
五、結果.....	13

苦參(飲片)HPLC

一、材料.....	37
二、儀器及層析管柱.....	37
三、實驗藥品及試劑來源.....	37
四、方法.....	37
五、結果.....	41

苦參(藥材+飲片)TLC

一、方法.....	50
二、萃法選擇及濃度測試.....	52
三、溶媒系統選擇.....	53
四、觀察方式選擇.....	57
五、十批苦參藥材樣品檢測.....	58
六、十批苦參飲片樣品檢測.....	60

苦參

(SOPHORAE FLAVESCENTIS 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苦參的乾燥根。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：苦參

生藥名：SOPHORAE FLAVESCENTIS RADIX

英文名：Lightyellow Sophora Root

基原：本品為豆科 Leguminosae 植物苦參 *Sophora flavescens* Aiton 之乾燥根。

採收加工：栽培 2~3 年後於春秋兩季採挖，除去根莖及鬚根，洗淨泥沙，切片曬乾。

藥材性狀：本品呈圓柱形，頂端膨大，不規則，具莖基殘跡，下端常有分枝，長 10~30 cm，直徑 1~5 cm。表面灰棕色或黃棕色，有明顯縱皺紋與橫長皮孔，栓皮薄且常破裂而成反捲狀，質堅硬，不易折斷。

飲片性狀：本品飲片為圓切或斜切厚片，大小不一，寬 1~5 cm，厚 2~5 mm。斷面淡黃色，形成層明顯成環，木質部有細微放射紋，裂隙多，皮部與木部有時呈分離狀，中心有時可見異型維管束呈同心性環列或不規則散在。氣微，味極苦。

生長分佈：落葉小灌木，喜溫暖潮濕環境，耐寒，對土壤要求不嚴，但因苦參為深根植物，故需地下水位低，排水良好之土地。俄羅斯、日本、印度、韓國及中國等地皆有產，藥材主產於山西、湖北、河南、河北等地。花期 5~7 月，果期 8~9 月。

三、藥材組織顯微鑑別 (圖 2)

1. 木栓層 6~12 層，呈棕色，多破裂。
2. 皮層窄，十數列薄壁細胞組成。
3. 韌皮部散有多數韌皮纖維。
4. 形成層斷續排列成環。
5. 木質部放射狀排列，且自中央向外分岔為 2~4 束，導管 1~2 列。
6. 木質部纖維束發達。
7. 射線寬，約 5~10 列細胞。
8. 含大量澱粉粒，並可見草酸鈣方晶。

四、藥材粉末顯微鑑別 (圖 3)

1. 本品粉末淡黃白色。
2. 可見棕色木栓層碎片。
3. 可見草酸鈣方晶，直徑約 10 μm ，偏光顯微鏡下呈亮白色至多彩色。
4. 澱粉粒多，單粒澱粉類球形或長圓形，直徑 5~10 μm ，複粒由 2~5 分粒組成，臍點裂縫狀。偏光顯微鏡下呈黑十字。
5. 導管多為有緣紋孔導管，偶可見網紋，直徑 50~70 μm 。
6. 纖維多，常成束，壁厚，部分含有草酸鈣方晶形成結晶纖維。偏光顯微鏡下呈亮白色至多彩色。



圖 1A 苦參藥材圖



圖 1B 苦參飲片藥材圖

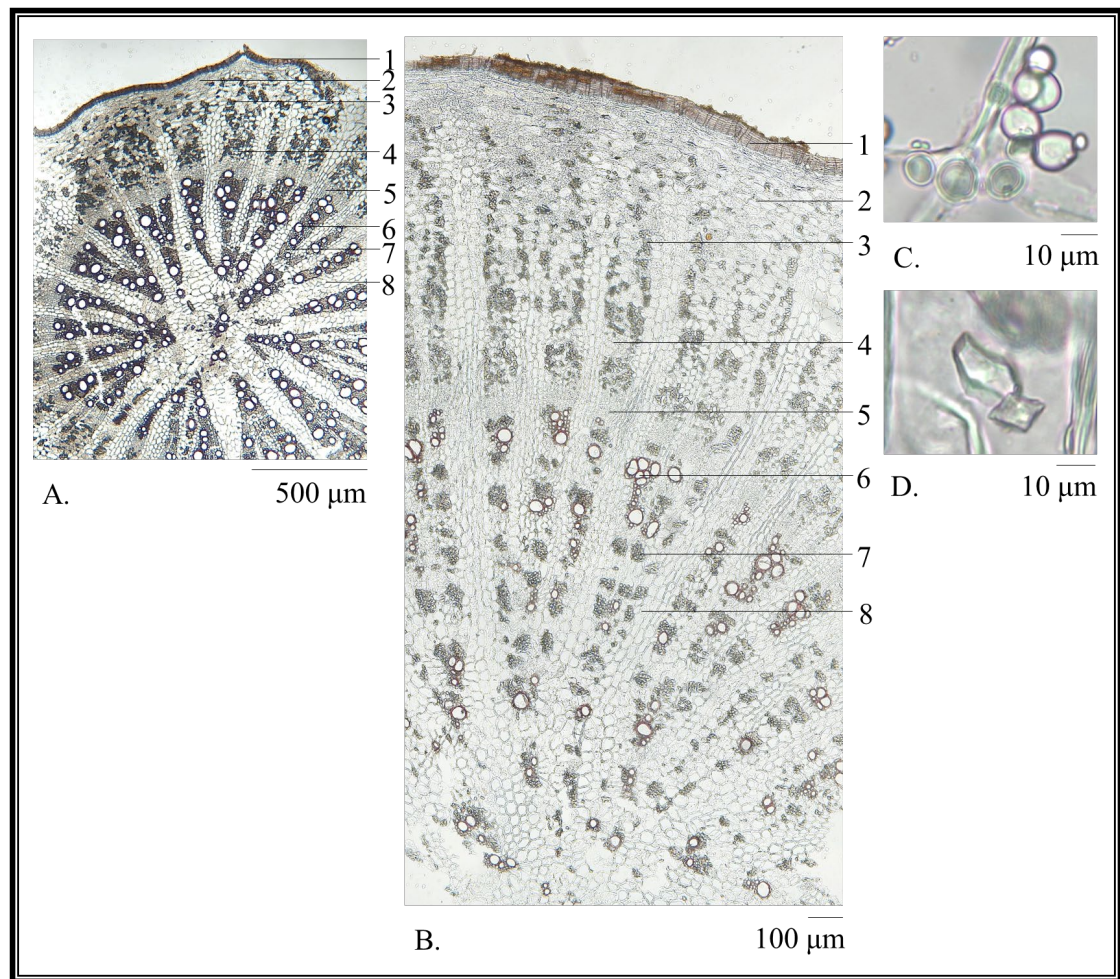


圖 2 苦參根橫切面顯微特徵圖

A.橫切面 B.橫切面放大圖 C.澱粉粒 D.草酸鈣方晶

1.木栓層 2.皮層 3.韌皮纖維 4.韌皮部 5.形成層 6.導管 7.木纖維 8.射線

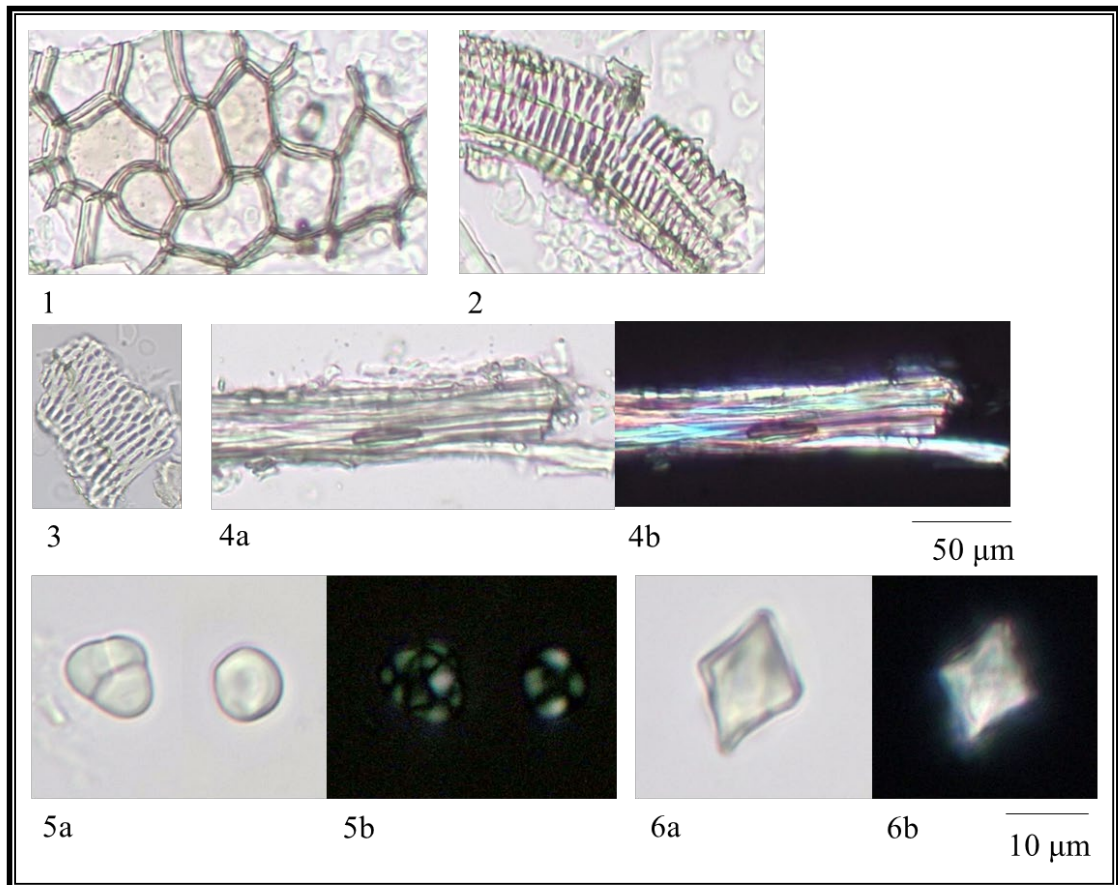


圖 3 苦參根粉末顯微特徵圖

a. 光學顯微鏡下特徵 b. 偏光顯微鏡下特徵

1. 木栓層碎片 2. 網紋導管 3. 有緣紋孔導管 4. 纖維 5. 澱粉粒單粒及複粒
6. 草酸鈣方晶

參考文獻

1. 衛生福利部臺灣中藥典第三版編輯工作小組編纂(2018)。臺灣中藥典第三版。台北市：衛生福利部。234~235 頁。
2. 戴新民(1984)。中藥栽培法。啟業書局。216 頁。
3. 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(2012)。香港中藥材標準第四冊。香港：香港特別行政區政府衛生署中醫藥事務部。313~322 頁。
4. 戴新民(1987)。現代本草中國藥材學上冊。啟業書局。563~564 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。555~559 頁。
6. 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。65~66 頁。
7. 李家實主編(1993)。中藥鑑定學。貴州科技出版社。142~143 頁。
8. 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。361 頁。
9. 國家藥典委員會編輯(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。211~212 頁。
10. 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。130~131 頁。

苦參(SOPHRAE FLAVESCENTIS RADIX)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店苦參藥材共 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 5C₁₈-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

乙腈(99.9%)購自於友和貿易股份有限公司；磷酸(≥85%)購自於 Merck；二乙胺購自於 Merck；氨水(25%)購自於 Merck。

(二) 標準品

標準品苦參鹼(Matrine)、氧化槐果鹼(Oxysophocarpine)與氧化苦參鹼(Oxymatrine)購自於普思生物科技股份有限公司，純度皆 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取條件評估

取本品粉末 5 份，每份準確稱取 1.0 g，置 50 mL 離心管中，準確加

入 50% 甲醇 25 mL、50% 甲醇 25 mL 和 25% (v/v) 氨溶液 0.5 mL、30% 甲醇 25 mL 和 25% (v/v) 氨溶液 0.5 mL、50% 乙醇 25 mL 和 25% (v/v) 氨溶液 0.5 mL、30% 乙醇 25 mL 和 25% (v/v) 氨溶液 0.5 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，取濾液移入 25 mL 容量瓶中，加溶媒至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, Minisart RC 0.45 μm)，即得。每針 10 μL 注入 HPLC，以所測得每克重量之標準品苦參鹼、氧化槐果鹼與氧化苦參鹼最大波峰面積為最佳苦參萃取溶媒。

(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 50% 甲醇 25 mL 和 25% (v/v) 氨溶液 0.5 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，取濾液移入 25 mL 容量瓶中，加 50% 甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, Minisart RC 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. 準確稱取標準品苦參鹼 2.0 mg，加 10 mL 的 HPLC 沖提液(乙腈-0.3%磷酸含 0.3% 二乙胺(3:97, v/v)製成每 1 mL 含苦參鹼 200 μg 的標準品儲備溶液，並以 HPLC 沖提液稀釋至 50 μg/mL 製成對照標準品溶液。
2. 準確稱取標準品氧化槐果鹼 10.0 mg，加 10 mL 的 HPLC 沖提液製成每 1 mL 含氧化槐果鹼 1000 μg 的標準品儲備溶液，並以 HPLC 沖提液稀釋至 100 μg/mL 製成對照標準品溶液。
3. 準確稱取標準品氧化苦參鹼 10.0 mg，加 10 mL 的 HPLC 沖提液製成每 1 mL 含氧化苦參鹼 1000 μg 的標準品儲備溶液，並以 HPLC 沖提液稀釋至 150 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 50% 甲醇 25 mL 和 25% (v/v) 氨溶液 0.5 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 2 次，合併濾液，減壓濃縮至少量，移入 50 mL 容量瓶中，加 50% 甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, Minisart RC 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苦參鹼、氧化槐果鹼與氧化苦參鹼的含量，即得。

(六) 檢量線

1. 準確吸取苦參鹼標準品儲備液適量(200 $\mu\text{g/mL}$)，以 HPLC 沖提液稀釋成含苦參鹼分別為 200、100、50、20、10、5.0 $\mu\text{g/mL}$ 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. 準確吸取氧化槐果鹼標準品儲備液適量(1000 $\mu\text{g/mL}$)，以 HPLC 沖提液稀釋成含氧化槐果鹼分別為 500、250、100、50、25、10、5.0 $\mu\text{g/mL}$ 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 。
3. 準確吸取氧化苦參鹼標準品儲備液適量(1000 $\mu\text{g/mL}$)，以 HPLC 沖提液稀釋成含氧化苦參鹼分別為 1000、750、500、250、150、80、40 $\mu\text{g/mL}$ 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. 以苦參鹼為 50 $\mu\text{g/mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以苦參鹼的波峰面積為指標，求出相對標準差。
2. 以氧化槐果鹼濃度為 100 $\mu\text{g/mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以氧化槐果鹼的波峰面積為指標，求出相對標準差。
3. 以氧化苦參鹼為 150 $\mu\text{g/mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以氧化苦參鹼的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性：取同一批市售苦參粉末，依苦參檢品溶液製備方法平行製備 5 份苦參檢品溶液，進樣測定，以苦參鹼、氧化槐果鹼與氧化苦參鹼的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售苦參粉末，依苦參檢品溶液製備方法製備苦參檢品溶液，分別在 0、2、4、8、24 小時進樣測定，以苦參鹼、氧化槐果鹼與氧化苦參鹼的含量為指標，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 $\geq 3:1$ 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，並以訊號雜訊比為 $\geq 10:1$ 時之濃度，作為定量極限估計值。

(十) 添加回收率試驗

1. 取已知苦參鹼含量的苦參藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 0.5 g，分別加入苦參鹼 0.3 mg，並按檢品溶液製備方法操作測定。
2. 取已知氧化槐果鹼含量的苦參粉末 5 份，每份準確稱取約 0.5 g，分別加入氧化槐果鹼 3.0 mg，並按檢品溶液製備方法操作測定。
3. 取已知氧化苦參鹼含量的苦參藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 0.5 g，分別加入氧化苦參鹼 12.0 mg，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：UV 220 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：35°C
5. 注入量：10 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈-0.3%磷酸含 0.3%二乙胺(3:97, v/v)*
0	100
20	100

*取 3 mL 磷酸及 3 mL 二乙胺加水至 1000 mL，後取 970 mL 的此溶液與 30 mL 乙腈配成 1000 mL 的混合液(pH 值約 2.4)。

(十二) 臺灣市售苦參藥材含量測定

取 10 批市售苦參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 公式計算樣品苦參鹼、氧化槐果鹼與氧化苦參鹼的百分比含量。

(十三) 苦參檢品之 UPLC 分析條件

1. 層析管：Agilent Poroshell 120 EC-C18 Column (100 x 4.6 mm, 2.7 μm)
2. 檢測波長：UV 220 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：

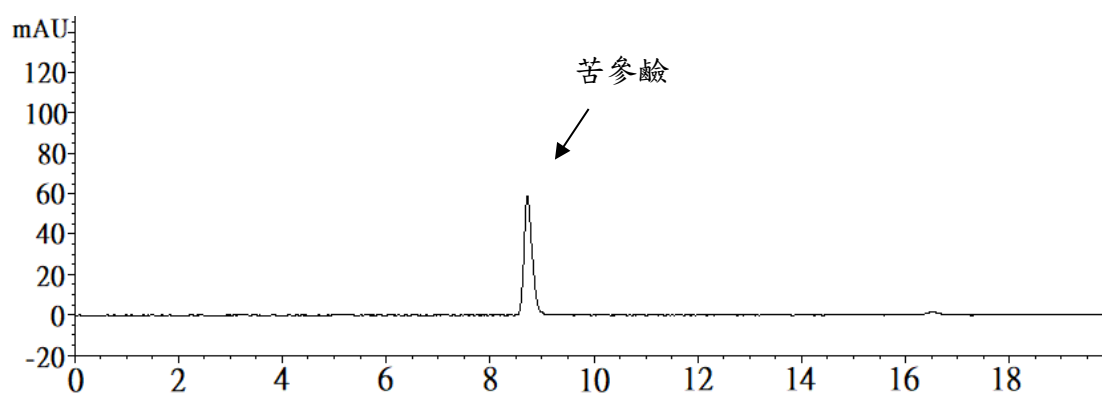
時間(min)	乙腈-0.3%磷酸含 0.3%二乙胺(3:97, v/v)*
0	100
5	100

*取 3 mL 磷酸及 3 mL 二乙胺加水至 1000 mL，後取 970 mL 的此溶液與 30 mL 乙腈配成 1000 mL 的混合液(pH 值約 2.4)。

五、結果

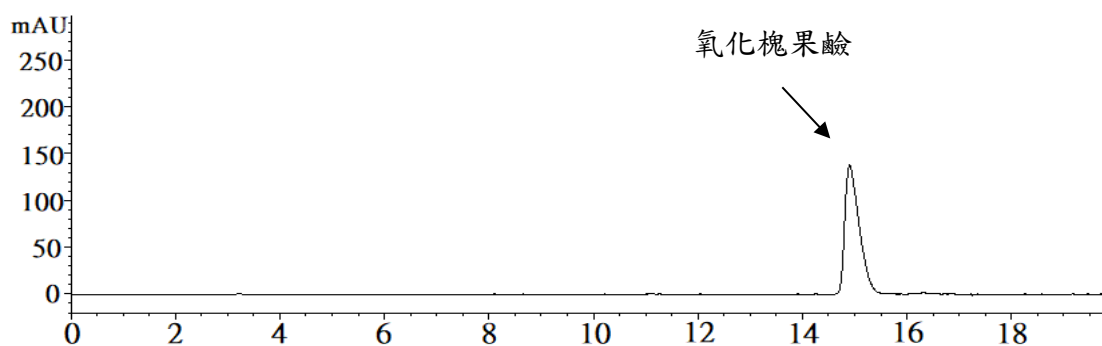
(一) 標準品苦參鹼、氧化槐果鹼與氧化苦參鹼之 HPLC 層析

於滯留時間 8.70 分鐘處顯示苦參鹼標準品波峰(圖一)。



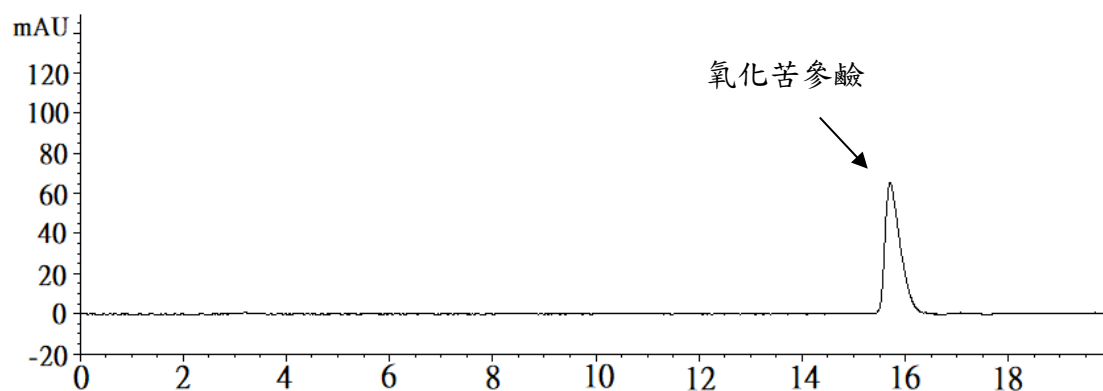
圖一、苦參鹼標準品溶液之 HPLC 層析圖

於滯留時間 14.73 分鐘處顯示氧化槐果鹼標準品波峰(圖二)。



圖二、氧化槐果鹼標準品溶液之 HPLC 層析圖

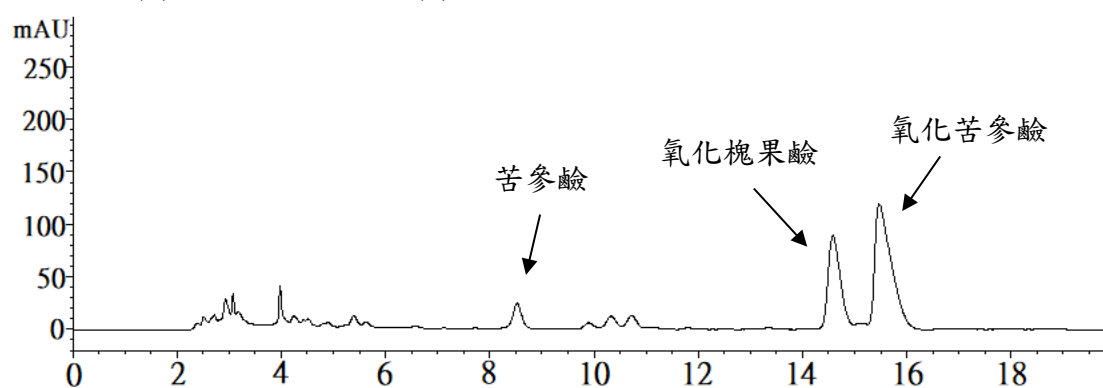
於滯留時間 15.54 分鐘處顯示氧化苦參鹼標準品波峰(圖三)。



圖三、氧化苦參鹼標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售苦參檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 8.54、14.73 與 15.44 分鐘處分別顯示苦參鹼、氧化槐果鹼與氧化苦參鹼波峰(圖四)。苦參鹼分離率(R)為 4.2，拖尾因子(T)為 1.0；氧化槐果鹼分離率(R)為 3.0，拖尾因子(T)為 1.2；氧化苦參鹼分離率(R)為 1.7，拖尾因子(T)為 1.9。



圖四、市售苦參檢品之 HPLC 層析圖

表一、苦參鹼、氧化槐果鹼與氧化苦參鹼之分離率與拖尾因子

	苦參鹼	氧化槐果鹼	氧化苦參鹼
分離率	4.2	3.0	1.7
拖尾因子	1.0	1.2	1.9

(三) 最佳萃取條件評估

以 50% 甲醇加 0.5 mL 25% (v/v) 氨溶液為溶媒時，每克藥材重量所得苦參鹼、氧化槐果鹼與氧化苦參鹼的波峰面積最大，顯示 50% 甲醇加 0.5 mL 25% (v/v) 氨溶液為最佳萃取溶媒。

表二、不同條件萃取比較

溶媒	苦參鹼 波峰面積	氧化槐果鹼 波峰面積	氧化苦參鹼 波峰面積	最佳 萃取
----	-------------	---------------	---------------	----------

50% 甲醇	65.4	1389.6	1720.2	
50% 甲醇加 0.5 mL 25% (v/v) 氨溶液	159.4	1824.9	2299.0	√
30% 甲醇加 0.5 mL 25% (v/v) 氨溶液	115.4	1565.6	1998.8	
50% 乙醇加 0.5 mL 25% (v/v) 氨溶液	140.8	1570.1	2064.8	
30% 乙醇加 0.5 mL 25% (v/v) 氨溶液	95.5	1179.0	1518.0	

(四) 最佳萃取次數評估

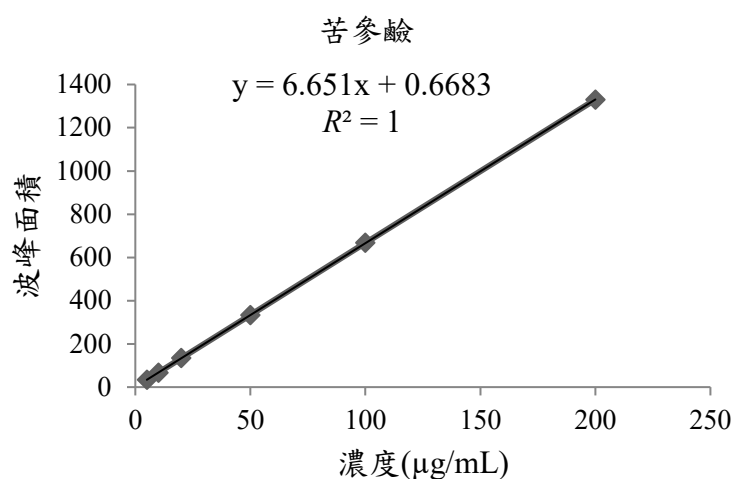
結果顯示萃取 3 次基本上已將苦參鹼、氧化槐果鹼與氧化苦參鹼萃取完全(萃取率大於 98%)。

表三、苦參檢品萃取次數評估

50% 甲醇加 0.5 mL 25% (v/v) 氨溶液	苦參鹼 波峰面積	氧化槐果鹼 波峰面積	氧化苦參鹼 波峰面積
第 1 次	133.9	1775.1	2276.6
第 2 次	67.7	800.1	1073.6
第 3 次	16.3	196.0	258.9
第 4 次	N.D	N.D	N.D

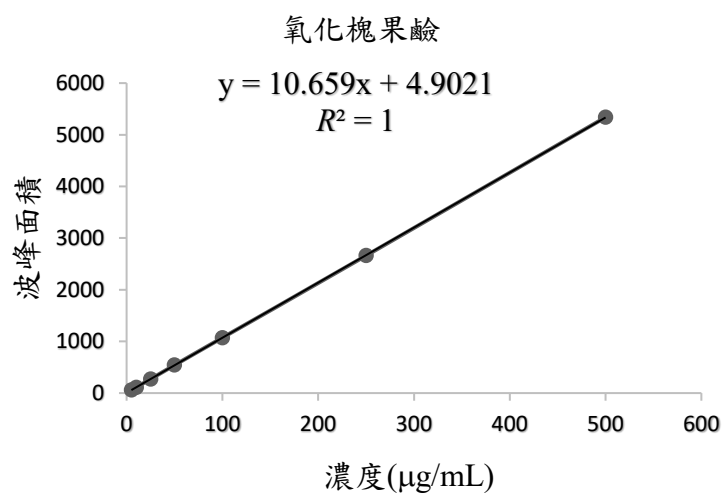
(五) 標準品苦參鹼、氧化槐果鹼與氧化苦參鹼檢量線

1. 經不同濃度苦參鹼(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 $y = 6.651x + 0.6683$ ， $R^2 = 1$ ，顯示濃度在 5.0–200 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖五)。



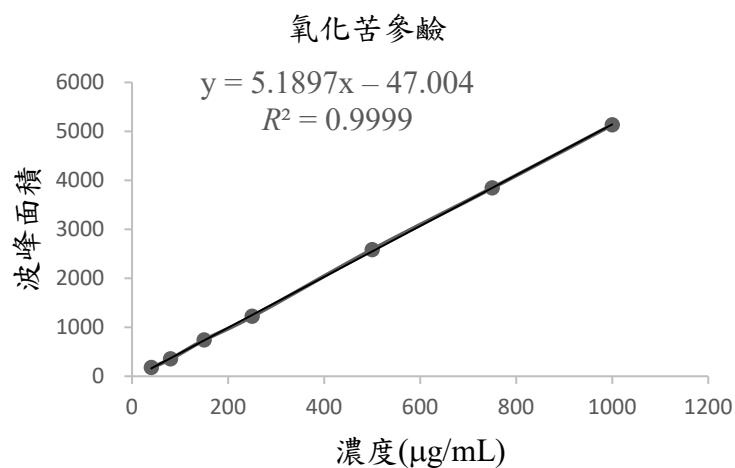
圖五、苦參鹼之檢量線圖

2. 經不同濃度氧化槐果鹼(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 $y = 10.659x + 4.9021$ ， $R^2 = 1$ ，顯示濃度在 5.0–500 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖六)。



圖六、氧化槐果鹼之檢量線圖

3. 經不同濃度氧化苦參鹼(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 $y = 5.1897x - 47.004$ ， $R^2 = 0.9999$ ，顯示濃度在 40–1000 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖七)。



圖七、氧化苦參鹼之檢量線圖

表四、苦參鹼、氧化槐果鹼與氧化苦參鹼之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
苦參鹼	5.0–200	$y = 6.651x + 0.6683$	1
氧化槐果鹼	5.0–500	$y = 10.659x + 4.9021$	1
氧化苦參鹼	40–1000	$y = 5.1897x - 47.004$	0.9999

(六) 精密度試驗

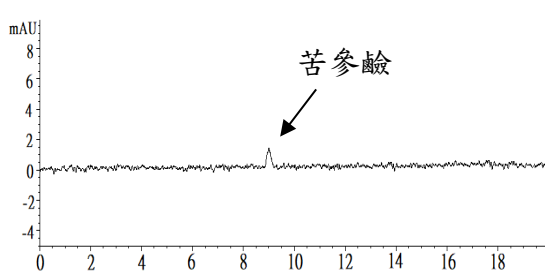
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，苦參鹼、氧化槐果鹼與氧化苦參鹼精密度之相對標準差分別為 0.48%、0.34%與 0.38%，在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

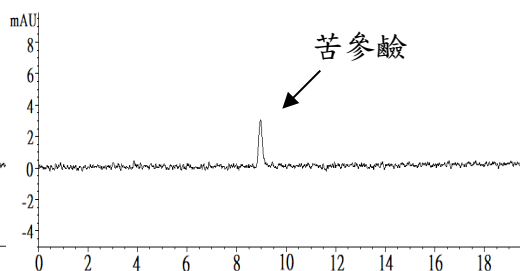
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，苦參鹼、氧化槐果鹼與氧化苦參鹼重複性之相對標準差分別為 2.16%、1.58%與 1.09%，在系統適用性要求內。苦參鹼、氧化槐果鹼與氧化苦參鹼在 24 小時內穩定，穩定性相對標準差分別為 1.72%、1.00%與 0.64%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

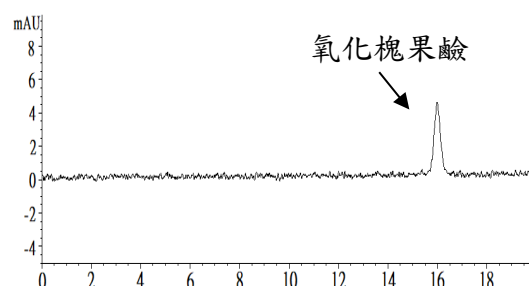
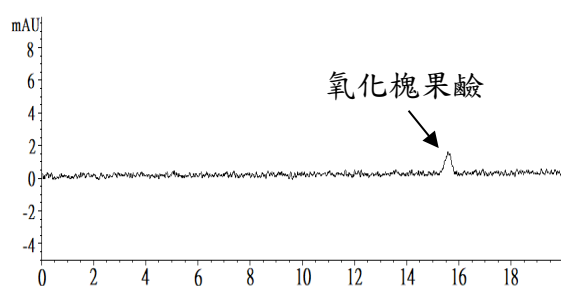
苦參鹼偵測極限為 2.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖八)，定量極限為 5.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖九)。氧化槐果鹼偵測極限為 2.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖十)，定量極限為 5.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖十一)氧化苦參鹼偵測極限為 5.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖十二)，定量極限為 15.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖十三)。



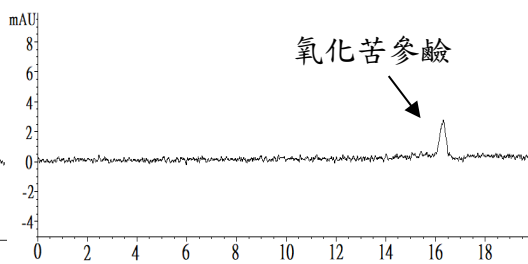
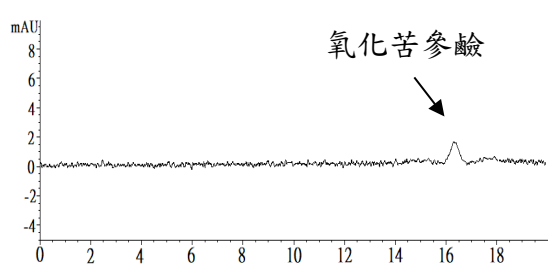
圖八、苦參鹼之偵測極限層析圖



圖九、苦參鹼之定量極限層析圖



圖十、氧化槐果鹼之偵測極限層析圖 圖十一、氧化槐果鹼之定量極限層析圖



圖十二、氧化苦參鹼之偵測極限層析圖 圖十三、氧化苦參鹼之定量極限層析圖

表五、各項檢驗分析

檢測項目	苦參鹼		氧化苦參鹼	
	濃度	R.S.D. (%)	濃度	濃度
精密度 (n=5)	50 µg/mL	0.48	100 µg/mL	0.34
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.1)	2.16	檢品溶液(No.1)	1.58
穩定性 (n=5)	檢品溶液(No.1)	1.72	檢品溶液(No.1)	1.00
偵測極限(n=1)	2.0 µg/mL	-	2.0 µg/mL	-
定量極限(n=1)	5.0 µg/mL	-	5.0 µg/mL	-
檢測項目	氧化苦參鹼			
	濃度	濃度		
精密度 (n=5)	150 µg/mL	0.38		
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.1)	1.09		
穩定性 (n=5)	檢品溶液(No.1)	0.64		
偵測極限(n=1)	5.0 µg/mL	-		
定量極限(n=1)	15.0 µg/mL	-		

(九) 添加回收率試驗

苦參鹼平均添加回收率為 102.6%，相對標準偏差為 3.99% (表六)。氧化槐果鹼平均添加回收率為 95.6 相對標準偏差為 2.50 (表七)。氧化苦參鹼平均添加回收率為 104.4%，相對標準偏差為 2.82% (表八)。

表六、苦參鹼添加回收率

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	0.50	0.363	0.3	0.682	106.33	102.6	3.99
2	0.50	0.363	0.3	0.676	104.33		
3	0.50	0.363	0.3	0.681	106.00		
4	0.50	0.363	0.3	0.666	101.00		
5	0.50	0.363	0.3	0.649	95.33		

表七、氧化槐果鹼添加回收率試驗

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	0.50	3.756	3.0	6.524	92.27	95.6	2.50
2	0.50	3.756	3.0	6.552	93.20		
3	0.50	3.756	3.0	6.667	97.03		
4	0.50	3.756	3.0	6.699	98.10		
5	0.50	3.756	3.0	6.680	97.47		

表八、氧化苦參鹼添加回收率

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	0.50	12.163	12.0	24.268	100.88	104.4	2.82
2	0.50	12.163	12.0	24.339	101.47		
3	0.50	12.163	12.0	24.759	104.97		
4	0.50	12.163	12.0	25.239	108.97		
5	0.50	12.163	12.0	24.819	105.47		

(十) 臺灣市售苦參含量測定

10 批苦參藥材之含量測定結果(乾燥品)如表九與表十所示，苦參鹼的含量為 0.053–0.265%，氧化槐果鹼的含量為 0.741–0.951%，氧化苦參鹼的含量為 1.606–2.841%。建議苦參藥材指標成分苦參鹼與氧化苦參鹼的總含量不得少於 1.2%，或氧化槐果鹼與氧化苦參鹼的總含量不得少於 1.2%，或苦參鹼、氧化槐果鹼與氧化苦參鹼的總含量不得少於 1.9%。理論板數按苦參鹼波峰計算應不低於 5000 (實際值為 16000)，氧化槐果鹼波峰計算應不低於 5000 (實際值為 17000)，氧化苦參鹼波峰計算應不低於 5000 (實際值為 14000)。

表九、臺灣市售苦參檢品之苦參鹼與氧化苦參鹼的含量

藥材編號(No.)	苦參鹼 含量(%)	氧化苦參鹼 含量(%)	苦參鹼+氧化苦參鹼 總含量(%)
1 (CA)	0.077	2.649	2.726
2 (CAB)	0.061	2.577	2.638
3 (ND)	0.058	2.116	2.174
4 (NDA)	0.053	2.319	2.372
5 (NF)	0.066	2.262	2.328
6 (NJ)	0.198	2.243	2.441
7 (NR)	0.265	2.738	3.003
8 (SAB)	0.097	2.683	2.780
9 (SU-1)	0.101	2.841	2.942
10 (SU-3)	0.072	1.606	1.678
平均值±S.D.	0.105±0.067	2.403±0.352	2.508±0.378

表十、臺灣市售苦參檢品之氧化槐果鹼的含量

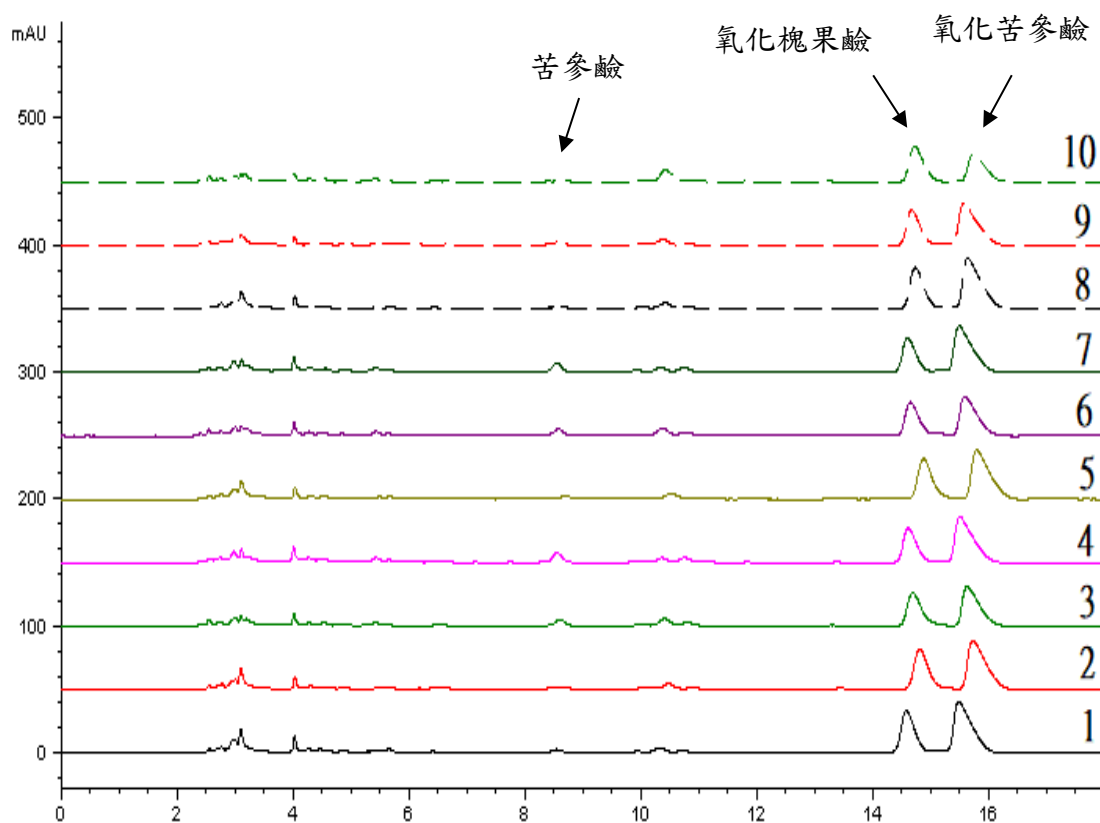
藥材編號(No.)	氧化槐果鹼 含量(%)	氧化槐果鹼+ 氧化苦參鹼 含量(%)	苦參鹼+氧化槐果鹼 +氧化苦參鹼 總含量(%)
1 (CA)	0.787	3.436	3.513
2 (CAB)	0.951	3.528	3.589
3 (ND)	0.741	2.857	2.915
4 (NDA)	0.777	3.096	3.149
5 (NF)	0.806	3.068	3.134
6 (NJ)	0.751	2.994	3.192
7 (NR)	0.754	3.497	3.762
8 (SAB)	0.795	2.478	2.575
9 (SU-1)	0.850	3.691	3.792
10 (SU-3)	0.820	2.426	2.498
平均值±S.D.	0.803±0.058	3.107±0.414	3.212±0.434

(十一) 苦參藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售苦參檢品溶液各 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：UV 220 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：35 $^{\circ}$ C
5. 注入量：10 μ L
6. 移動相：

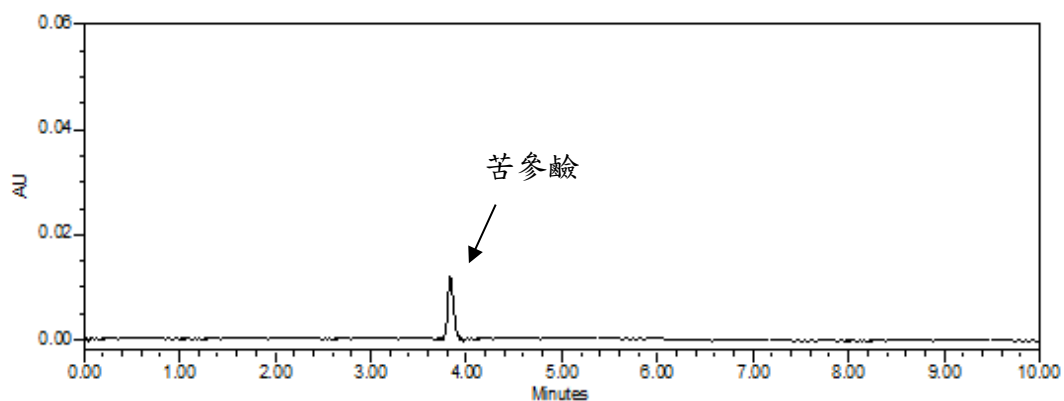
時間(min)	乙腈-0.3%磷酸含 0.3%二乙胺(3:97, v/v)
0	100
20	100



圖十四、10 批苦參藥材之 HPLC 指紋圖譜

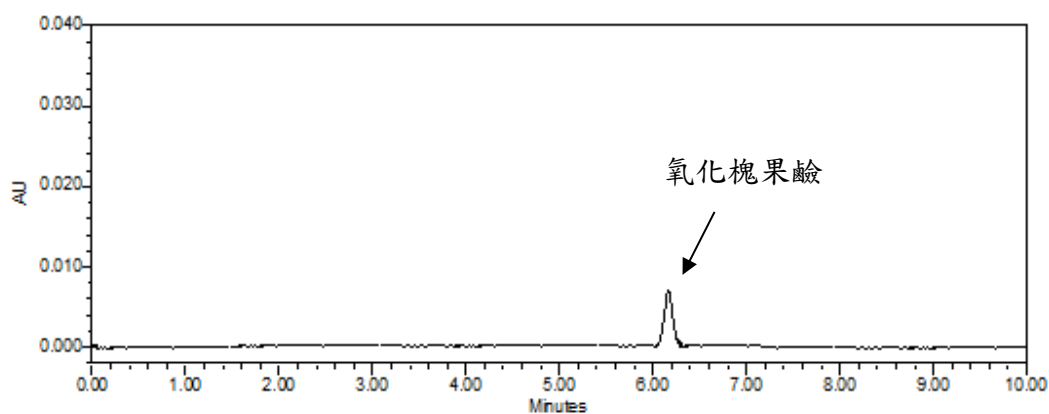
(十二) 標準品苦參、氧化槐果鹼與氧化苦參鹼之 UPLC 層析

於滯留時間 3.83 分鐘處顯示苦參鹼標準品波峰(圖十五)。



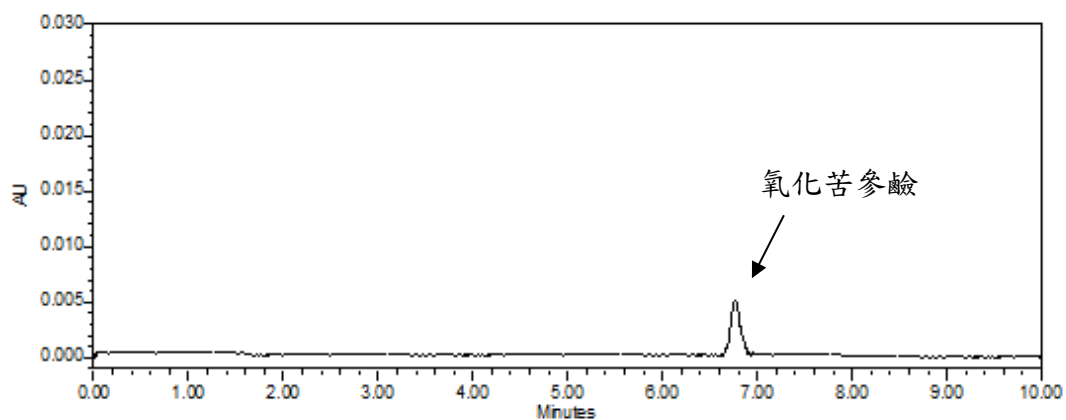
圖十五、苦參鹼標準品溶液之 UPLC 層析圖

於滯留時間 6.16 分鐘處顯示氧化槐果鹼標準品波峰(圖十六)。



圖十六、氧化槐果鹼標準品溶液之 UPLC 層析圖

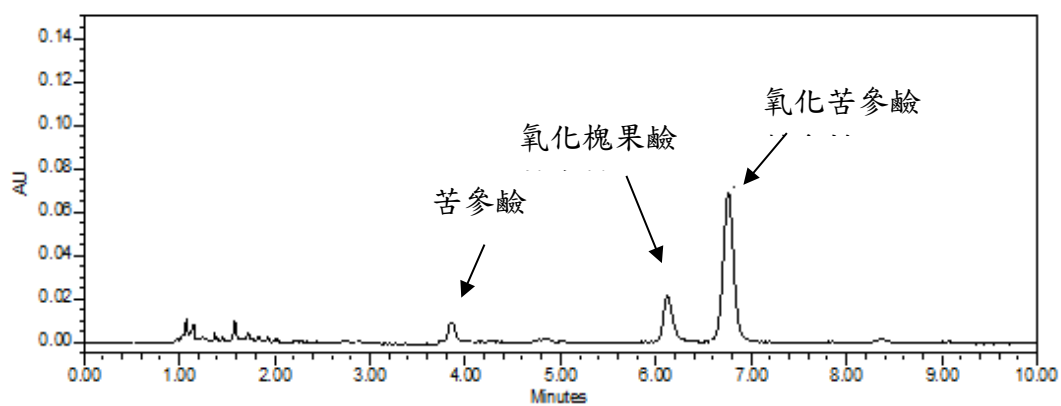
於滯留時間 6.76 分鐘處顯示氧化苦參鹼標準品波峰(圖十七)。



圖十七、氧化苦參鹼標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售苦參檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 3.82、6.12 與 6.79 分鐘處分別顯示苦參鹼、
氧化槐果鹼與氧化苦參鹼波峰(圖十八)。

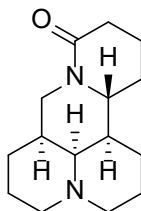


圖十八、市售苦參檢品之 UPLC 層析圖

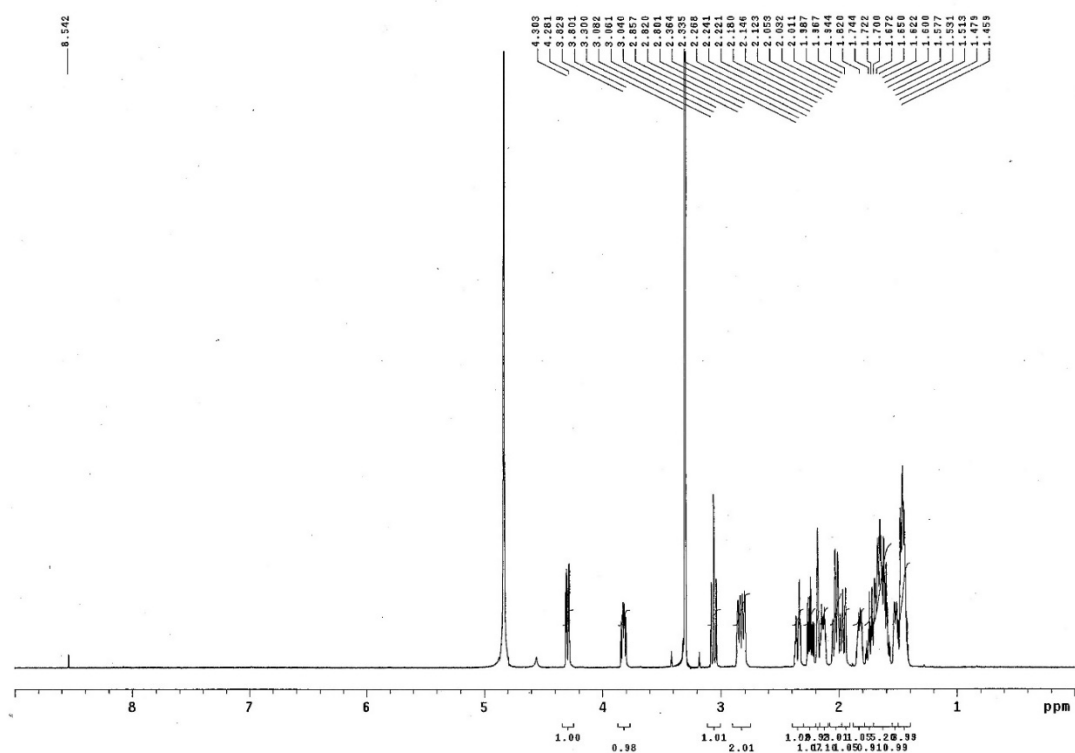
(十四) 苦參鹼的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{15}H_{24}N_2O$ ；分子量：248.36；熔點：77 °C；白色結晶。

(十五) 苦參鹼的結構

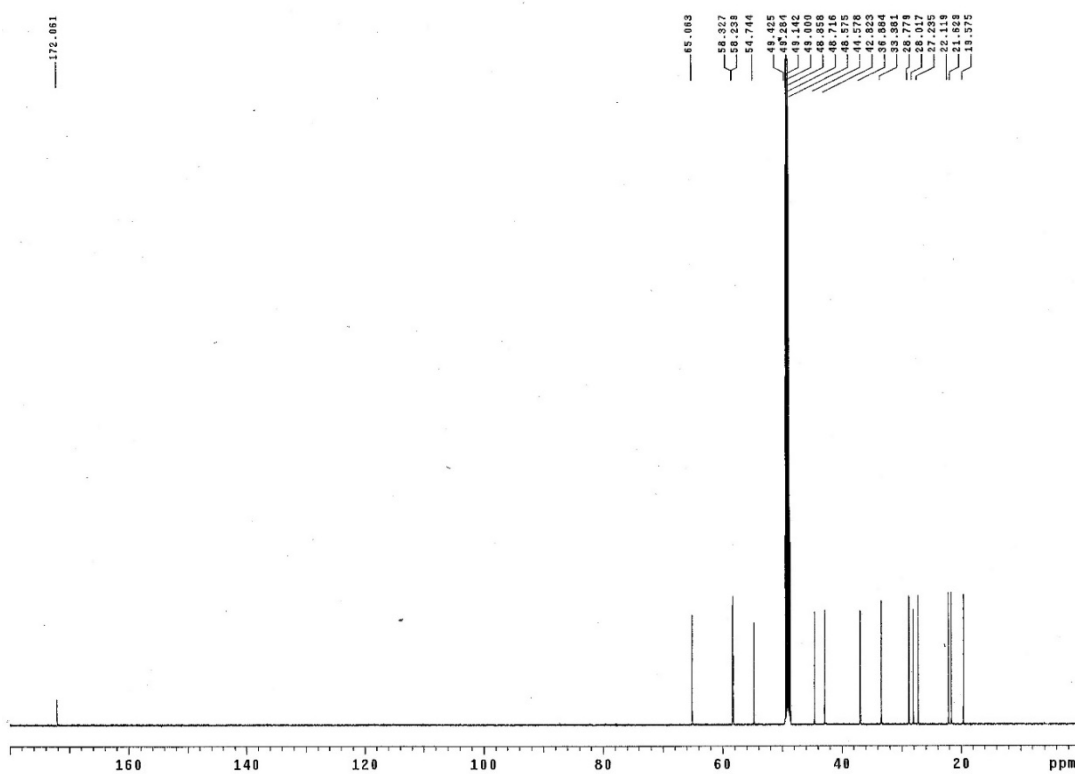


(十六) 苦參鹼的 ^1H NMR 圖譜



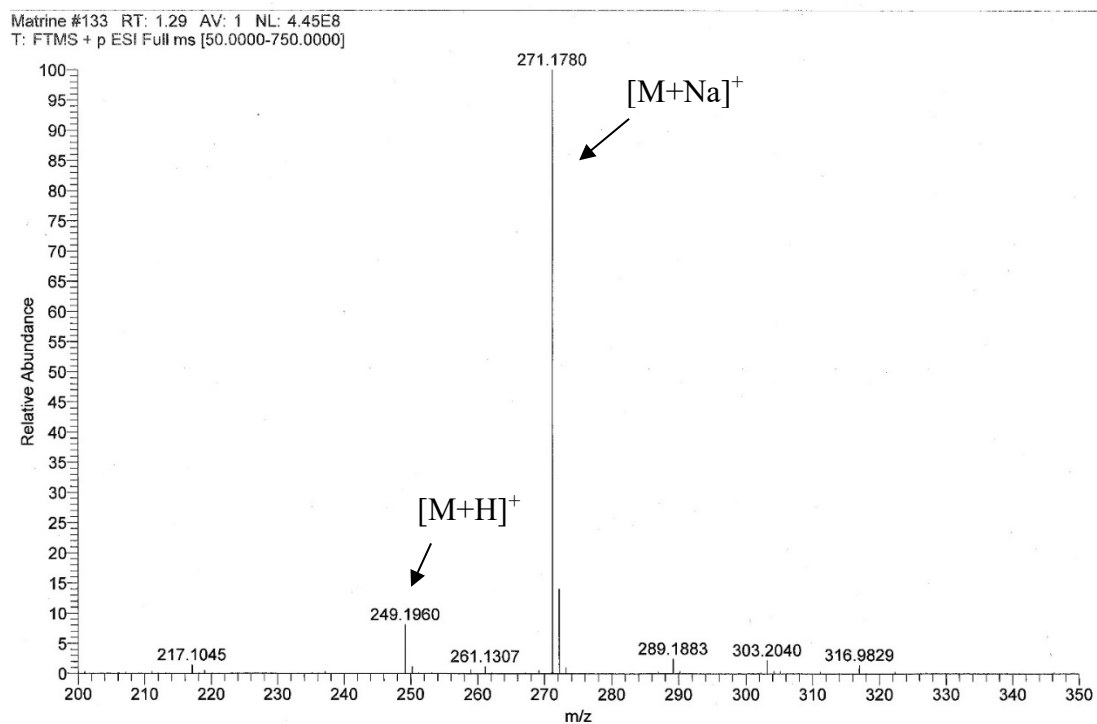
圖十九、苦參鹼的 ^1H NMR 圖譜(CD_3OD)

(十七) 苦參鹼的 ^{13}C NMR 圖譜



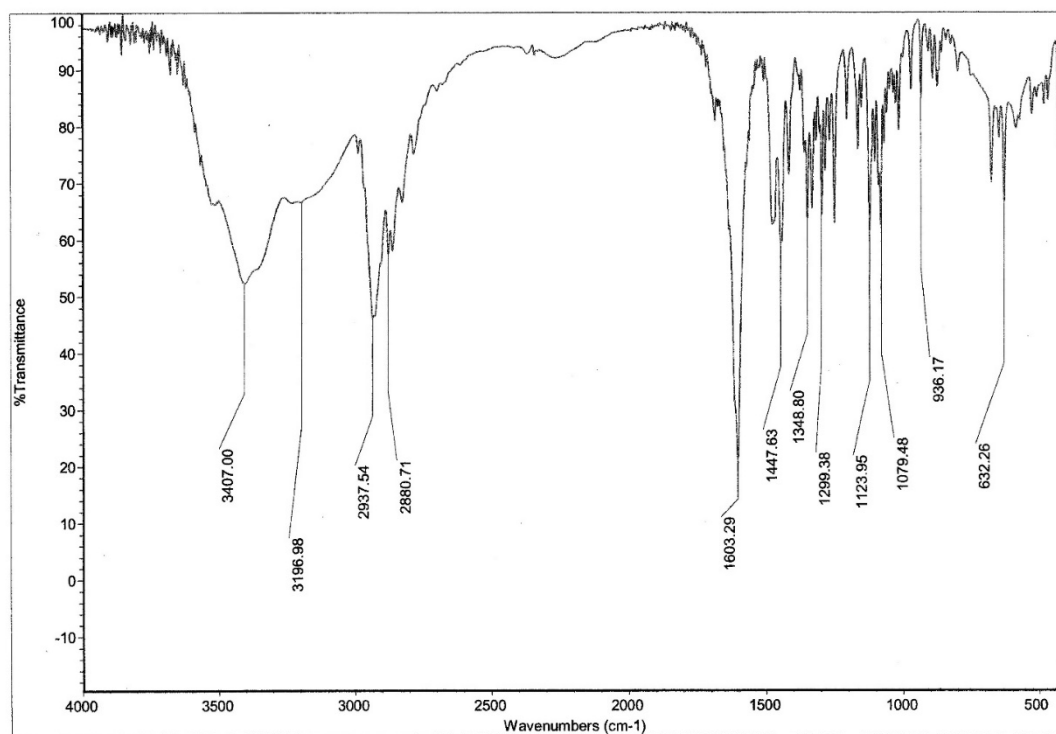
圖二十、苦參鹼的 ^{13}C NMR 圖譜(CD_3OD)

(十八) 苦參鹼的 ESI-MS 圖譜



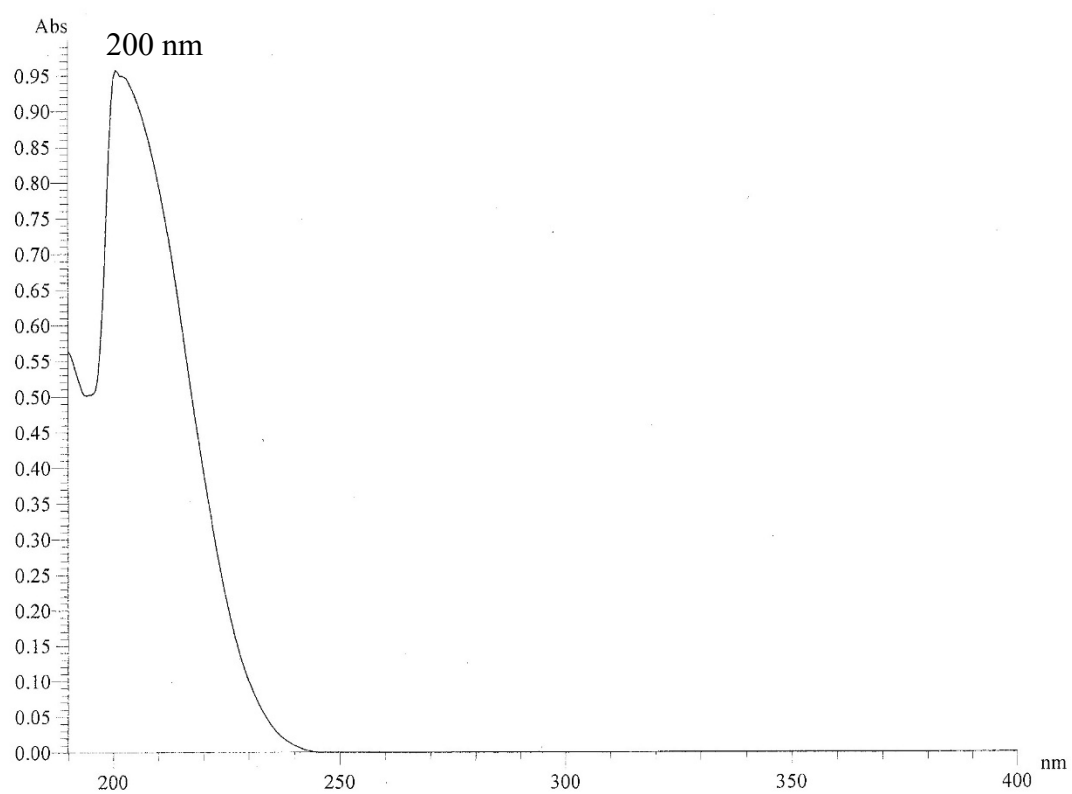
圖二十一、苦參鹼的 ESI-MS 圖譜

(十九) 苦參鹼的 FTIR 圖譜



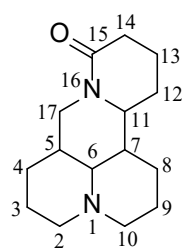
圖二十二、苦參鹼的 FTIR 圖譜

(二十) 苦參鹼的 UV 圖譜



圖二十三、苦參鹼的 UV 圖譜

(二十一) 苦參鹼的氫、碳化學位移



苦參鹼

表十一、苦參鹼氫、碳化學位移(CD₃OD)^a

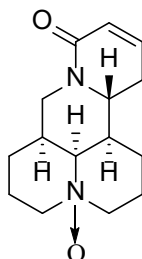
position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
2	1.99–2.01 (m), 2.80–2.82 (m)	58.2
3	1.45–1.48 (m), 1.72–1.75 (m)	22.1
4	1.59–1.64 (m), 1.64–1.68 (m)	28.8
5	1.68–1.71 (m)	36.9
6	2.16–2.18 (br s)	65.1
7	1.51–1.53 (m)	44.6
8	1.42–1.43 (m), 1.94–1.97 (m)	27.2
9	1.44–1.46 (m), 1.64–1.68 (m)	21.6
10	2.03–2.05 (m), 2.84–2.86 (m)	58.3
11	3.80–3.84 (m)	54.7
12	1.47–1.50 (m), 2.11–2.16 (m)	28.0
13	1.62–1.67 (m), 1.81–1.85 (m)	19.6
14	2.21–2.27 (m), 2.33–2.37 (m)	33.4
15	-	172.1
17	3.06 (t, 12.6), 4.29 (dd, 13.2, 4.2)	42.8

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

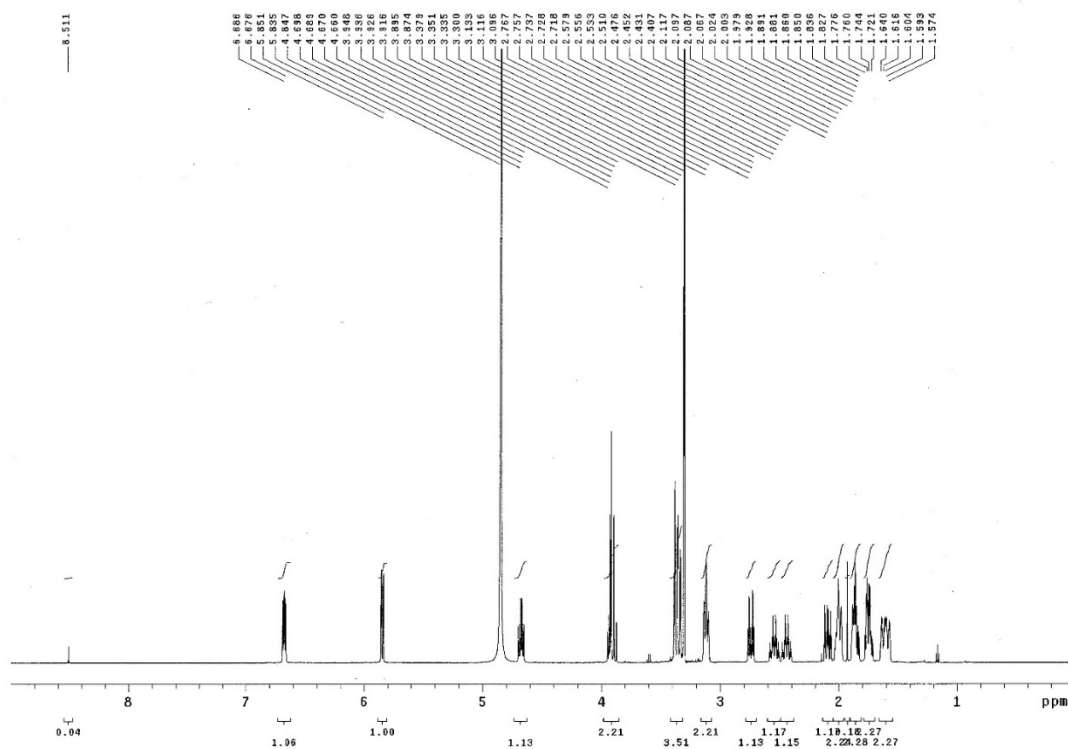
(二十二) 氧化槐果鹼的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{15}H_{22}N_2O_2$ ；分子量：262.35；熔點：74–76 °C；白色粉末。

(二十三) 氧化槐果鹼的結構

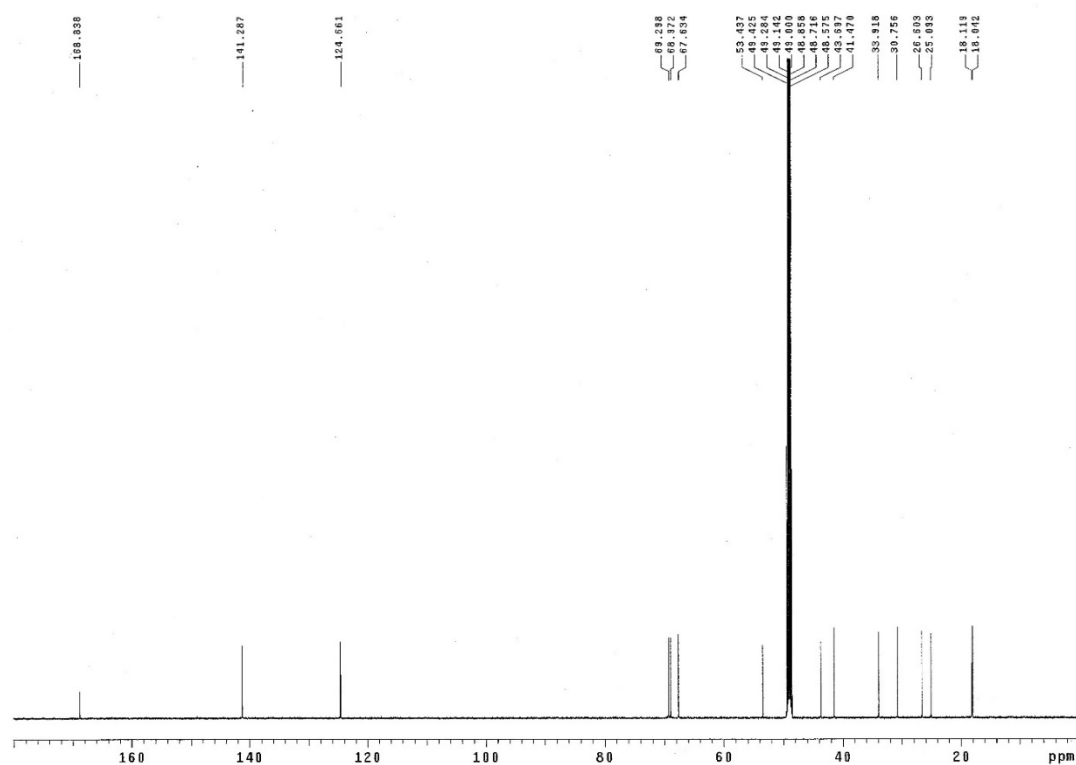


氧化槐果鹼

(二十四) 氧化槐果鹼的 ^1H NMR 圖譜

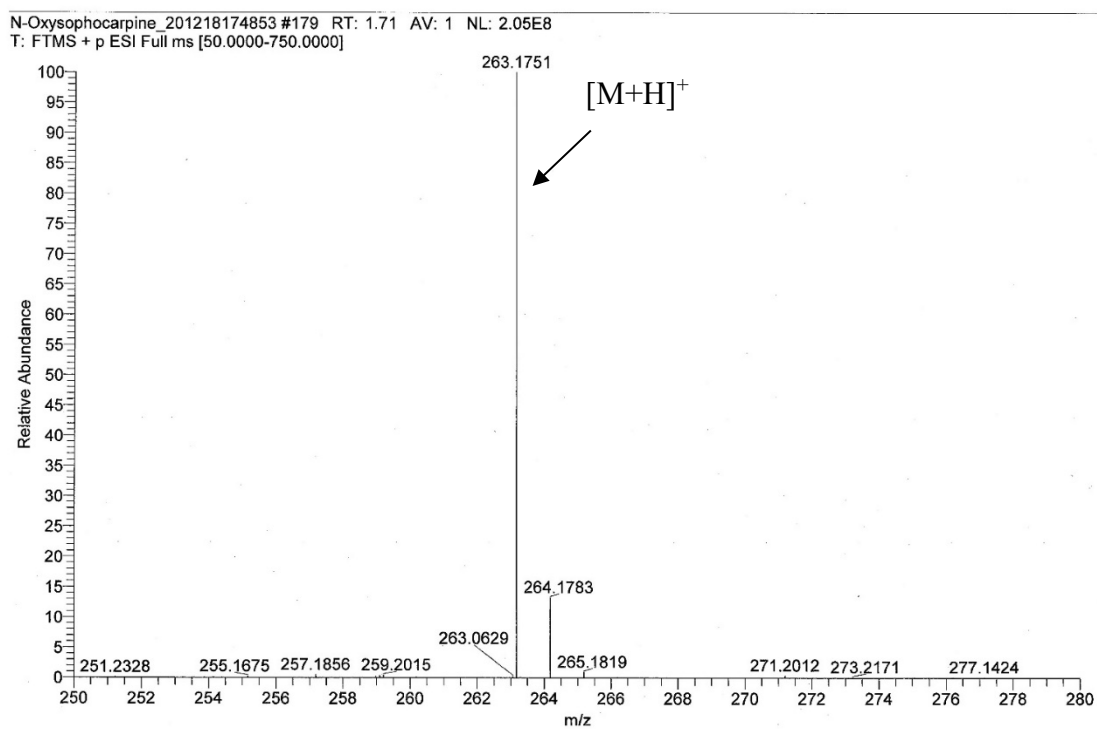
圖二十四、氧化槐果鹼的 ^1H NMR 圖譜(CD_3OD)

(二十五) 氧化槐果鹼的 ^{13}C NMR 圖譜



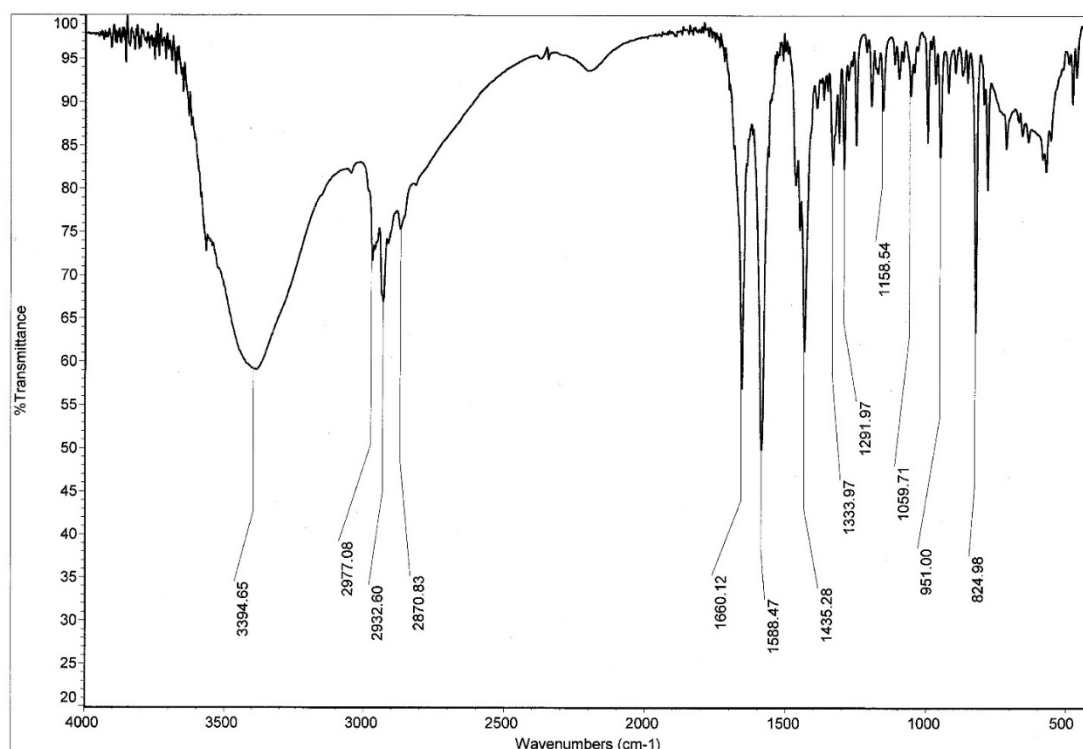
圖二十五、氧化槐果鹼的 ^{13}C NMR 圖譜(CD_3OD)

(二十六) 氧化槐果鹼的 ESI-MS 圖譜



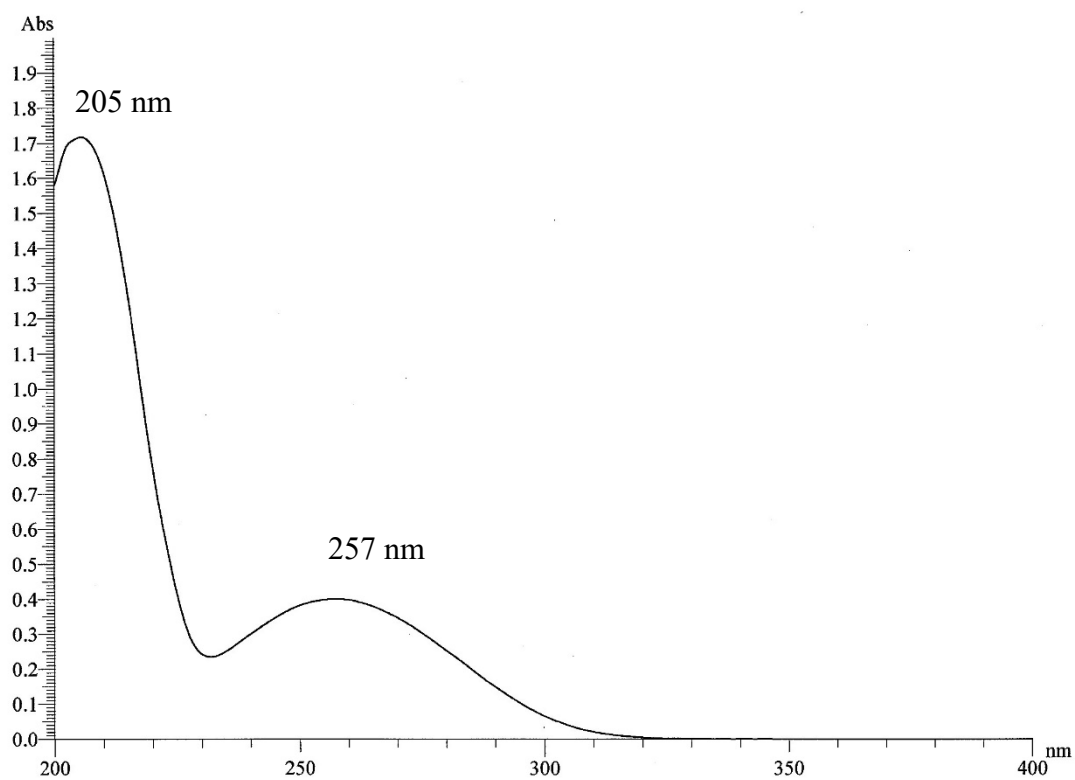
圖二十六、氧化槐果鹼的 ESI-MS 圖譜

(二十七) 氧化槐果鹼的 FTIR 圖譜



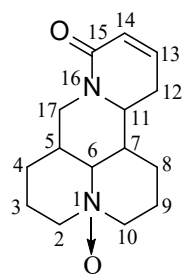
圖二十七、氧化槐果鹼的 FTIR 圖譜

(二十八) 氧化槐果鹼的 UV 圖譜



圖二十八、氧化槐果鹼的 UV 圖譜

(二十九) 氧化槐果鹼的氫、碳化學位移



氧化槐果鹼

表十二、氧化槐果鹼氫、碳化學位移(CD₃OD)^a

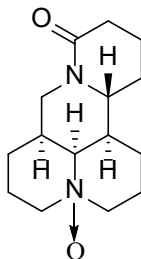
position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
2	3.12–3.13 (m), 3.33–3.34 (m)	69.0
3	1.63–1.64 (m), 2.50–2.59 (m)	18.1
4	1.74–1.77 (m), 1.83–1.89 (m)	26.6
5	1.98–2.03 (m)	33.9
6	3.34–3.39 (m)	67.6
7	1.86–1.89 (m)	41.5
8	1.71–1.78 (m), 1.98–2.01 (m)	25.1
9	1.57–1.62 (m), 2.40–2.48 (m)	18.0
10	3.10–3.12 (m), 3.35–3.38 (m)	69.3
11	4.67 (td, 11.4, 5.4)	53.4
12	2.07–2.12 (m), 2.72–2.77 (m)	30.8
13	6.64–6.69 (m)	141.3
14	5.84 (d, 9.6)	124.7
15	-	168.8
17	3.87–3.95 (m)	43.7

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

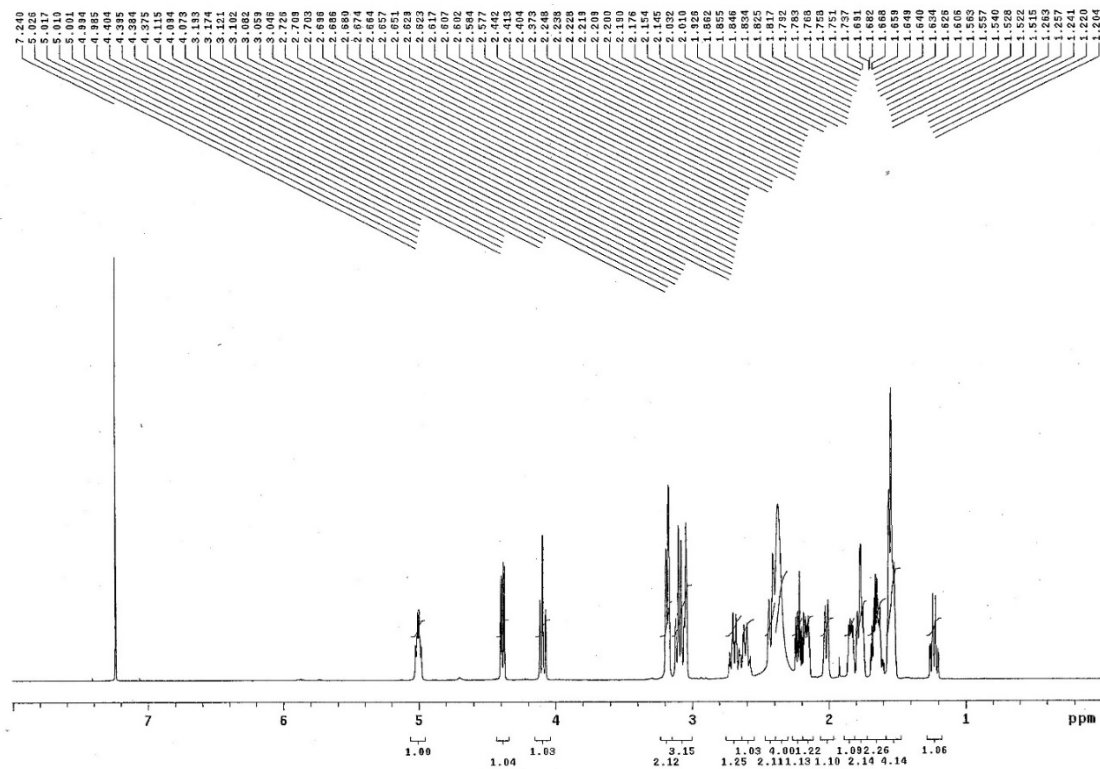
(三十) 氧化苦參鹼的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{15}H_{24}N_2O_2$ ；分子量：264.36；熔點：207–208 °C；白色粉末。

(三十一) 氧化苦參鹼的結構

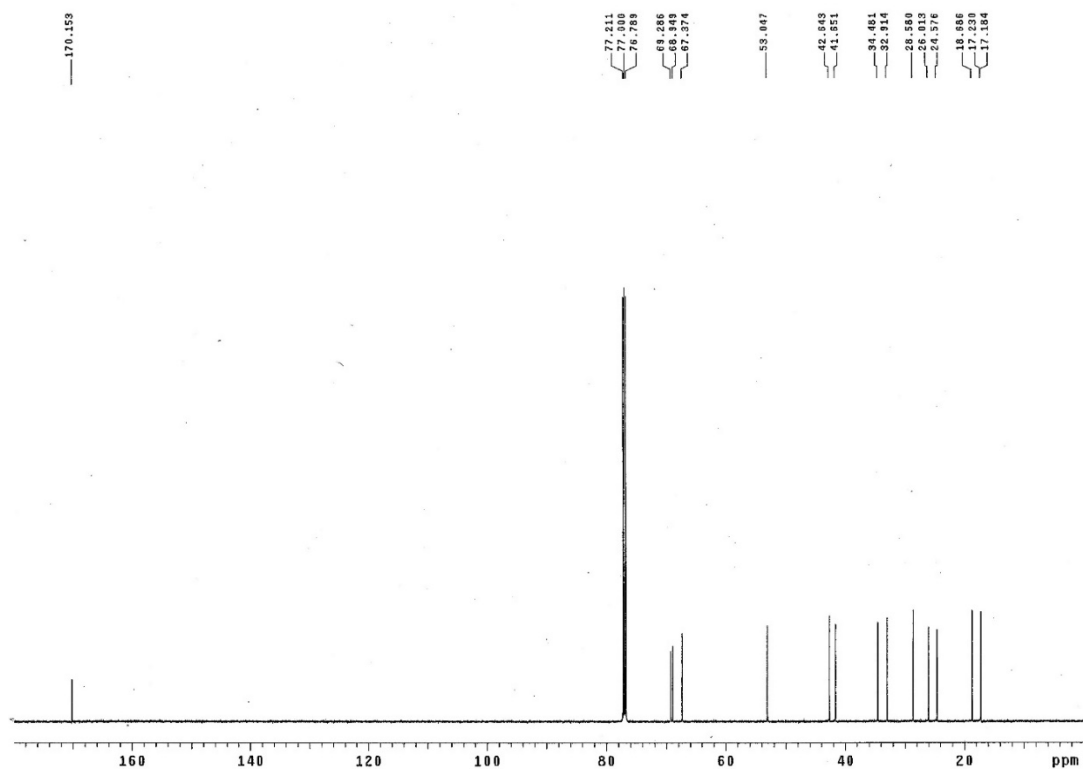


(三十二) 氧化苦參鹼的 1H NMR 圖譜



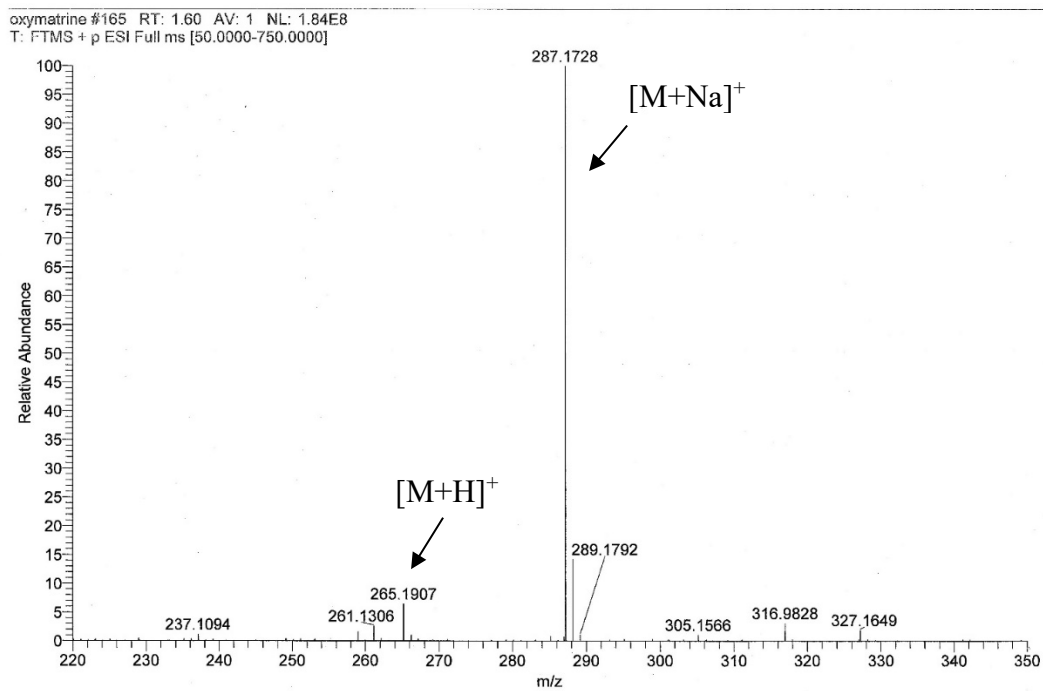
圖二十九、氧化苦參鹼的 1H NMR 圖譜($CDCl_3$)

(三十三) 氧化苦參鹼的 ^{13}C NMR 圖譜



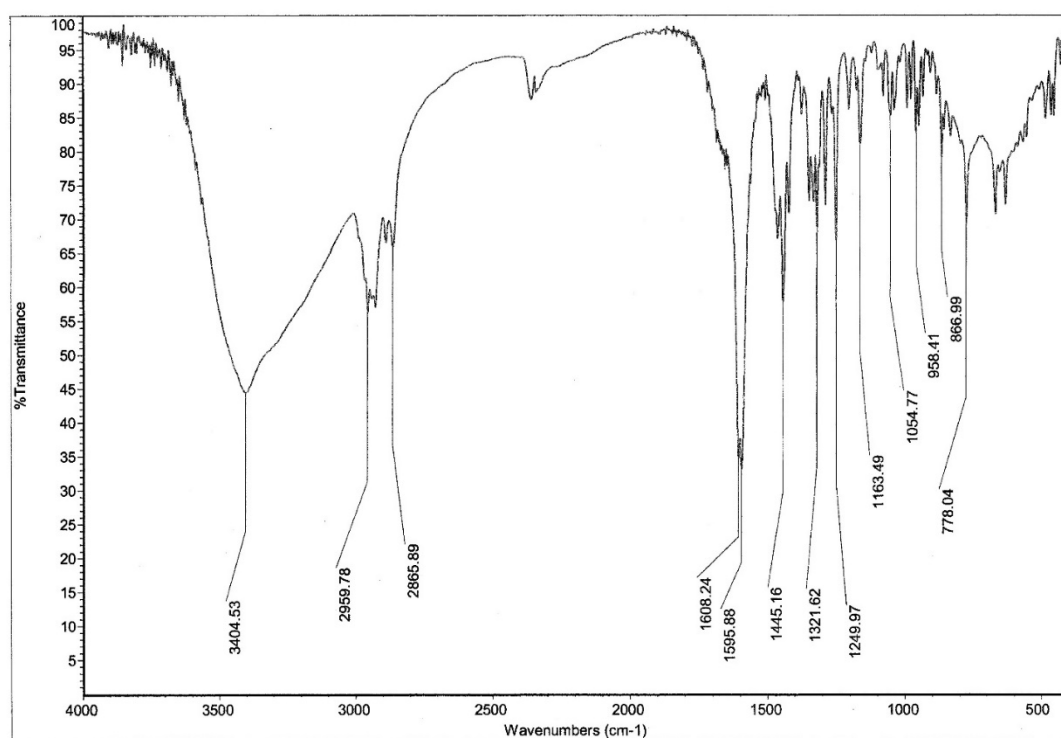
圖三十、氧化苦參鹼的 ^{13}C NMR 圖譜(CDCl_3)

(三十四) 氧化苦參鹼的 ESI-MS 圖譜



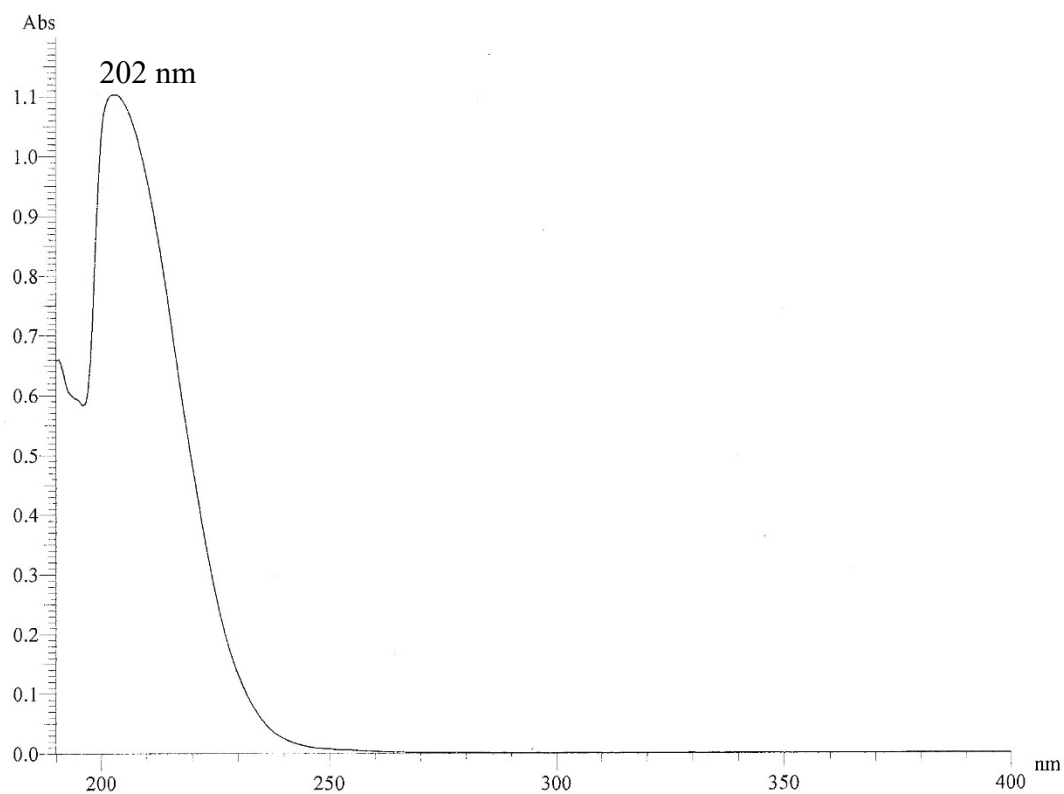
圖三十一、氧化苦參鹼的 ESI-MS 圖譜

(三十五) 氧化苦參鹼的 FTIR 圖譜



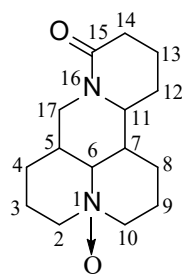
圖三十二、氧化苦參鹼的 FTIR 圖譜

(三十六) 氧化苦參鹼的 UV 圖譜



圖三十三、氧化苦參鹼的 UV 圖譜

(三十七) 氧化苦參鹼的氫、碳化學位移



氧化苦參鹼

表十三、氧化苦參鹼氫、碳化學位移(CDCl₃)^a

position	δ_{H} (600 MHz)	δ_{C} (150 MHz)
2	3.10 (t, 12.0)	68.9
3	1.51–1.56 (m), 2.66–2.73 (m)	17.2
4	1.66–1.69 (m), 1.77–1.79 (m)	26.0
5	1.82–1.86 (m)	34.5
6	3.05–3.06 (m)	67.4
7	1.53–1.56 (m)	42.6
8	1.51–1.56 (m), 2.01–2.03 (m)	24.6
9	1.51–1.56 (m), 2.58–2.65 (m)	17.2
10	3.18 (br d, 11.4)	69.3
11	4.99–5.03 (m)	53.0
12	1.20–1.26 (m), 2.15–2.19 (m)	28.6
13	1.63–1.66 (m), 1.74–1.77 (m)	18.7
14	2.19–2.23 (m), 2.24–2.44 (m)	32.9
15	-	170.2
17	4.09 (t, 12.6), 4.39 (dd, 12.0, 5.4)	41.7

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

苦參飲片(SOPHRAE FLAVESCENTIS RADIX)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店苦參飲片共 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 5C₁₈-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 Agilent Poroshell 120 EC-C18 Column (100 x 4.6 mm, 2.7 μm)。

三、實驗藥品及試劑來源

(一) 試劑

乙腈(99.9%)購自於友和貿易股份有限公司; 磷酸(≥85%)購自於 Merck; 二乙胺購自於 Merck; 氨水(25%)購自於 Merck。

(二) 標準品

標準品苦參鹼(Matrine)、氧化槐果鹼(Oxysophocarpine)與氧化苦參鹼(Oxymatrine)購自於普思生物科技股份有限公司, 純度皆 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取條件評估

苦參飲片最佳萃取條件同苦參藥材。

(二) 最佳萃取次數評估

苦參飲片最佳萃取次數同苦參藥材。

(三) 對照標準品溶液

1. 準確稱取標準品苦參鹼 2.0 mg，加 10 mL 的 HPLC 沖提液(乙腈-0.3%磷酸含 0.3%二乙胺(3:97, v/v)製成每 1 mL 含苦參鹼 200 μg 的標準品儲備溶液，並以 HPLC 沖提液稀釋至 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 製成對照標準品溶液。
2. 準確稱取標準品氧化槐果鹼 10.0 mg，加 10 mL 的 HPLC 沖提液製成每 1 mL 含氧化槐果鹼 1000 μg 的標準品儲備溶液，並以沖提液稀釋至 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 製成對照標準品溶液。
3. 準確稱取標準品氧化苦參鹼 10.0 mg，加 10 mL 的 HPLC 沖提液製成每 1 mL 含氧化苦參鹼 1000 μg 的標準品儲備溶液，並以沖提液稀釋至 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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 1.0 g，置 50 mL 離心管中，加入 50% 甲醇 25 mL 和 25% (v/v) 氨溶液 0.5 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 $4000 \times g$)，以 No.1 濾紙過濾，取濾液，殘渣部分重複提取 2 次，合併濾液，減壓濃縮至少量，移入 50 mL 容量瓶中，加入 50% 甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, Minisart RC 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苦參鹼、氧化槐果鹼與氧化苦參鹼的含量，即得。

(六) 檢量線

1. 準確吸取苦參鹼標準品儲備液適量(200 $\mu\text{g}/\text{mL}$)，以 HPLC 沖提液稀釋成含苦參鹼分別為 200、100、50、20、10、5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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. 準確吸取氧化槐果鹼標準品儲備液適量(1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$)，以 HPLC 沖提液稀釋成含氧化槐果鹼分別為 500、250、100、50、25、10、5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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 。

3. 準確吸取氧化苦參鹼標準品儲備液適量(1000 µg/mL)，以 HPLC 沖提液稀釋成含氧化苦參鹼分別為 1000、750、500、250、150、80、40 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

1. 以苦參鹼為 50 µg/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以苦參鹼的波峰面積為指標，求出相對標準差。
2. 以氧化槐果鹼濃度為 100 µg/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以氧化槐果鹼的波峰面積為指標，求出相對標準差。
3. 以氧化苦參鹼為 150 µg/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以氧化苦參鹼的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性：取同一批市售苦參飲片粉末，依苦參飲片檢品溶液製備方法平行製備 5 份苦參飲片檢品溶液，進樣測定，以苦參鹼、氧化槐果鹼與氧化苦參鹼的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售苦參飲片粉末，依苦參飲片檢品溶液製備方法製備苦參飲片檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以苦參鹼、氧化槐果鹼與氧化苦參鹼的波峰面積為指標，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 $\geq 3:1$ 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，並以訊號雜訊比為 $\geq 10:1$ 時之濃度，作為定量極限估計值。

(十) 添加回收率試驗

1. 取已知苦參鹼含量的苦參飲片粉末 5 份，每份準確稱取約 0.5 g，分別加入苦參鹼 0.3 mg，並按檢品溶液製備方法操作測定。
2. 取已知氧化槐果鹼含量的苦參粉末 5 份，每份準確稱取約 0.5 g，分別加入氧化槐果鹼 3.0 mg，並按檢品溶液製備方法操作測定。
3. 取已知氧化苦參鹼含量的苦參飲片粉末 5 份，每份準確稱取約 0.5 g，分別加入氧化苦參鹼 10.0 mg，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：UV 220 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：10 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈-0.3%磷酸含 0.3%二乙胺(3:97, v/v)*
0	100
20	100

*取 3 mL 磷酸及 3 mL 二乙胺加水至 1000 mL，後取 970 mL 的此溶液與 30 mL 乙腈配成 1000 mL 的混合液(pH 值約 2.4)。

(十二) 臺灣市售苦參飲片含量測定

取 10 批市售苦參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 公式計算樣品苦參鹼、氧化槐果鹼與氧化苦參鹼的百分含量。

(十三) 苦參飲片檢品之 UPLC 層析條件

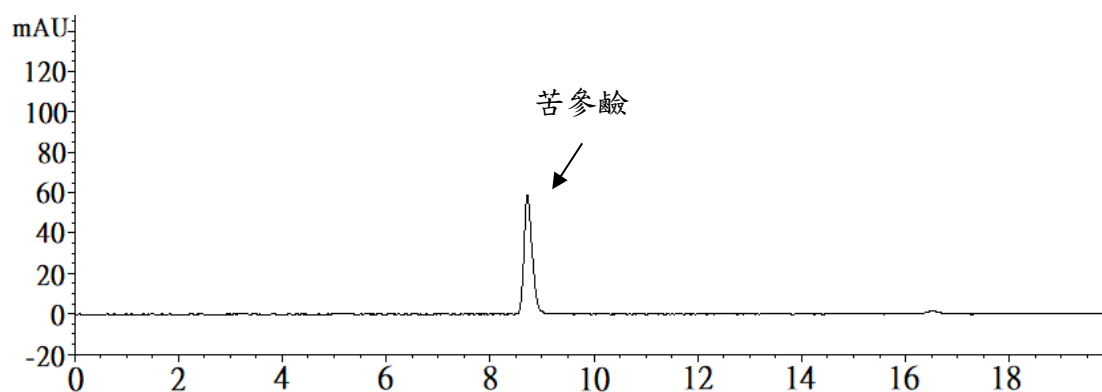
1. 層析管：Agilent Poroshell 120 EC-C18 Column (100 x 4.6 mm, 2.7 μm)
2. 檢測波長：UV 220 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈-0.3%磷酸含 0.3%二乙胺(3:97, v/v)*
0	100
5	100

*取 3 mL 磷酸及 3 mL 二乙胺加水至 1000 mL，後取 970 mL 的此溶液與 30 mL 乙腈配成 1000 mL 的混合液(pH 值約 2.4)。

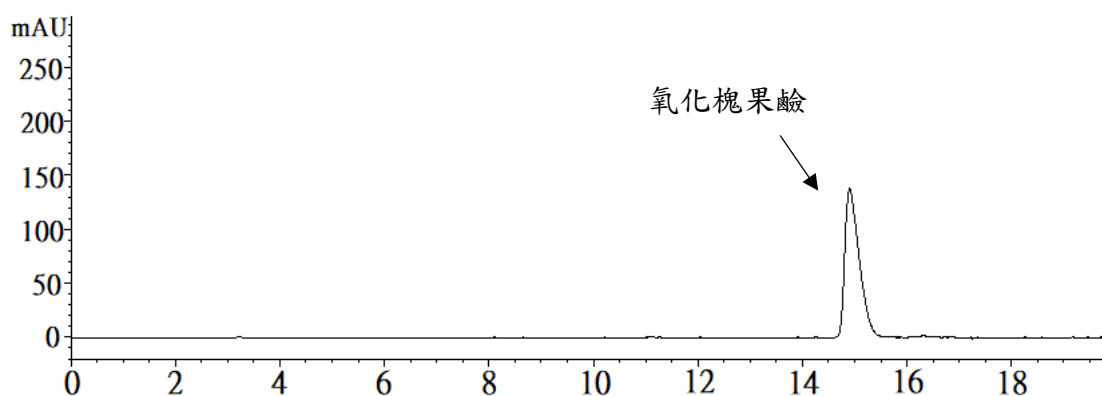
五、結果

(一) 標準品苦參鹼、氧化槐果鹼與氧化苦參鹼之 HPLC 層析
於滯留時間 8.65 分鐘處顯示苦參鹼標準品波峰(圖一)。



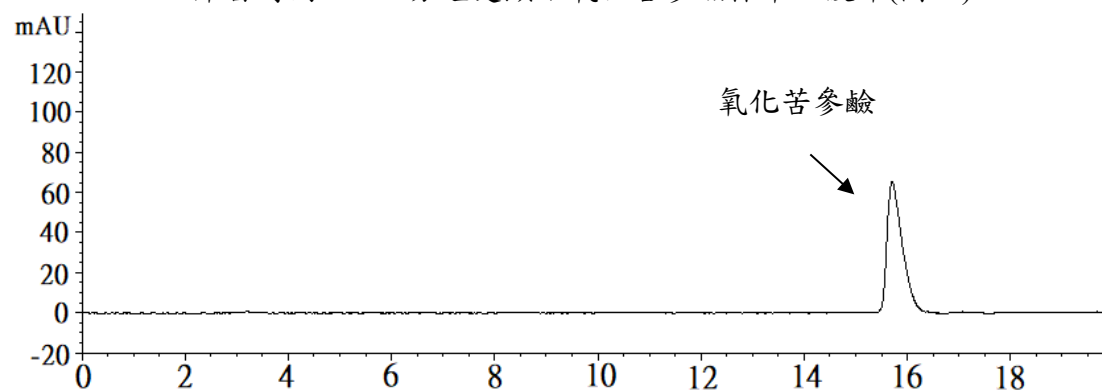
圖一、苦參鹼標準品溶液之 HPLC 層析圖

於滯留時間 14.73 分鐘處顯示氧化槐果鹼標準品波峰(圖二)。



圖二、氧化槐果鹼標準品溶液之 HPLC 層析圖

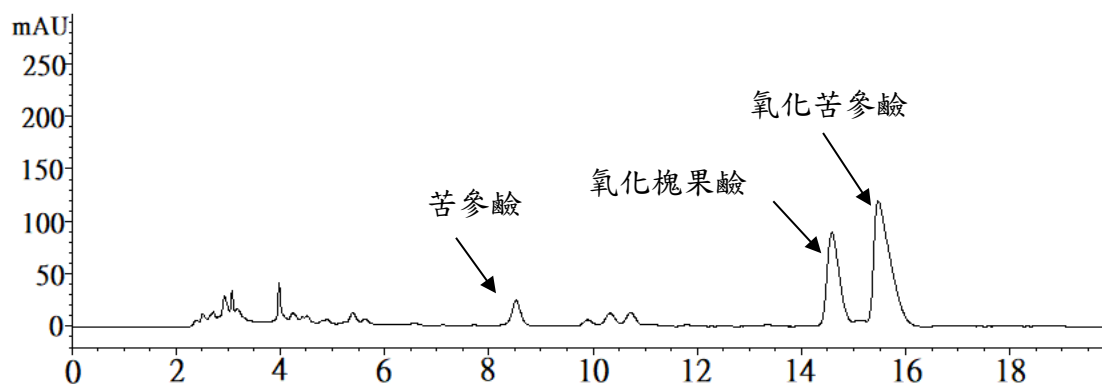
於滯留時間 15.54 分鐘處顯示氧化苦參鹼標準品波峰(圖三)。



圖三、氧化苦參鹼溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售苦參飲片檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 8.65、14.73 與 15.54 分鐘處分別顯示苦參鹼檢品中苦參鹼、氧化槐果鹼與氧化苦參鹼波峰(圖四)。苦參鹼分離率分離率(R)為 4.2，拖尾因子(T)為 1.0，氧化槐果鹼分離率(R)為 3.0，拖尾因子(T)為 1.2，氧化苦參鹼分離率(R)為 1.7，拖尾因子(T)為 1.9。



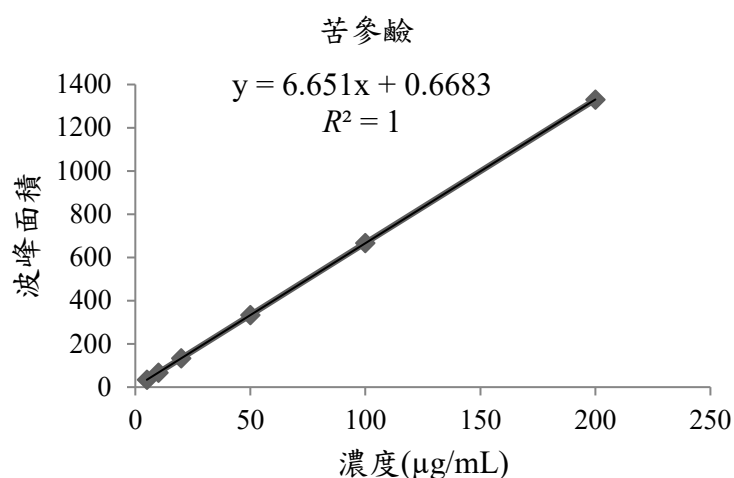
圖四、市售苦參飲片檢品之 HPLC 層析圖

表一、苦參鹼、氧化槐果鹼與氧化苦參鹼之分離率與拖尾因子

	苦參鹼	氧化槐果鹼	氧化苦參鹼
分離率	4.2	3.0	1.7
拖尾因子	1.0	1.2	1.9

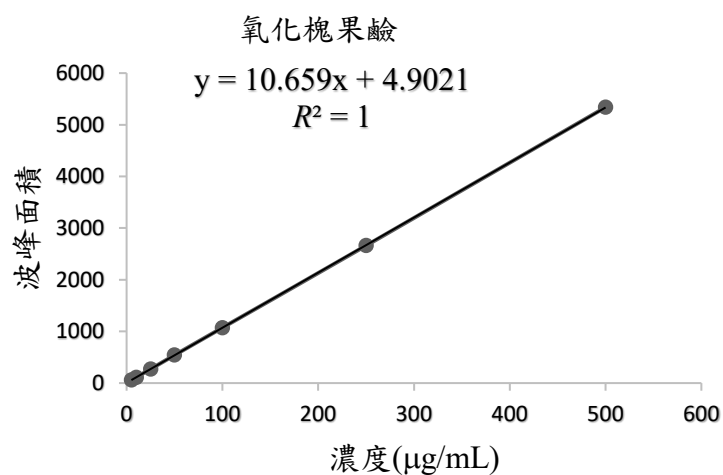
(三) 標準品苦參鹼、氧化苦參鹼與氧化槐果鹼檢量線

1. 經不同濃度苦參鹼(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 $y = 6.651x + 0.6683$ ， $R^2 = 1$ ，顯示濃度在 5.0–200 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖五)。



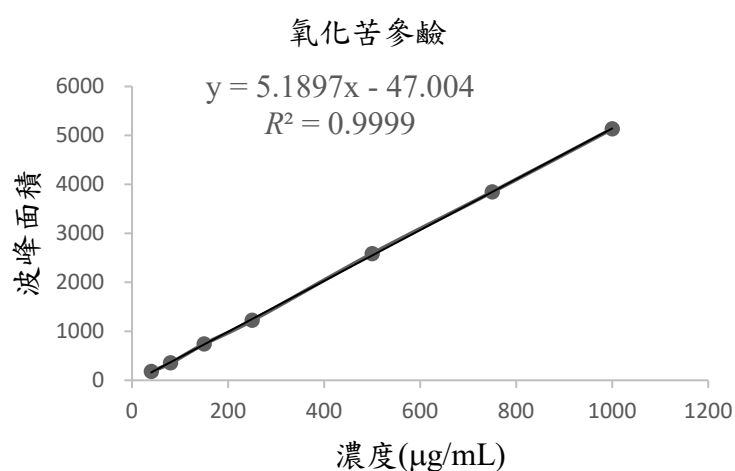
圖五、苦參鹼之檢量線圖

1. 經不同濃度氧化槐果鹼(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 $y = 10.659x + 4.9021$ ， $R^2 = 1$ ，顯示濃度在 5.0–500 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖六)。



圖六、氧化槐果鹼之檢量線圖

2. 經不同濃度氧化苦參鹼(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 $y = 5.1897x - 47.004$ ， $R^2 = 0.9999$ ，顯示濃度在 40–1000 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖七)。



圖七、氧化苦參鹼之檢量線圖

表二、苦參鹼、氧化槐果鹼與氧化苦參鹼之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
苦參鹼	5.0–200	$y = 6.651x + 0.6683$	1
氧化槐果鹼	5.0–500	$y = 10.659x + 4.9021$	1
氧化苦參鹼	40–1000	$y = 5.1897x - 47.004$	0.9999

(四) 精密度試驗

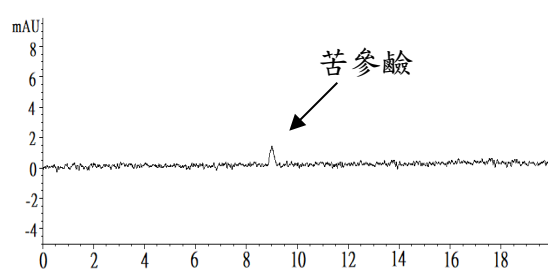
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，苦參鹼、氧化槐果鹼與氧化苦參鹼精密度之相對標準差為 0.47%、0.34%與 0.39%，均在系統適用性要求內。

(五) 重複性與穩定性試驗

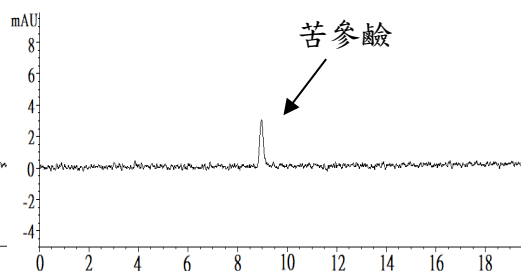
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，苦參鹼、氧化槐果鹼與氧化苦參鹼重複性之相對標準差分別為 3.70%、1.27%與 0.78%，在系統適用性要求內。苦參鹼、氧化槐果鹼與氧化苦參鹼在 24 小時內穩定，穩定性相對標準差分別為 4.35%、1.02%與 0.94%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(六) 偵測極限與定量極限試驗

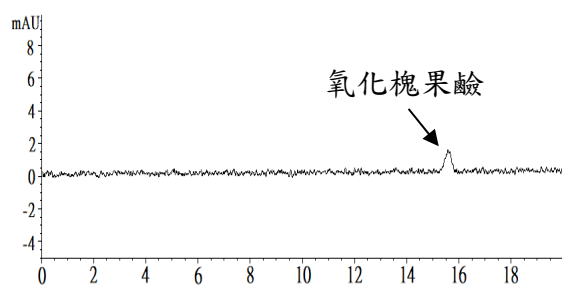
苦參鹼偵測極限為 2.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖八)，定量極限為 5.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖九)。氧化槐果鹼偵測極限為 2.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖十)，定量極限為 5.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖十一)氧化苦參鹼偵測極限為 5.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖十二)，定量極限為 15.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖十三)。



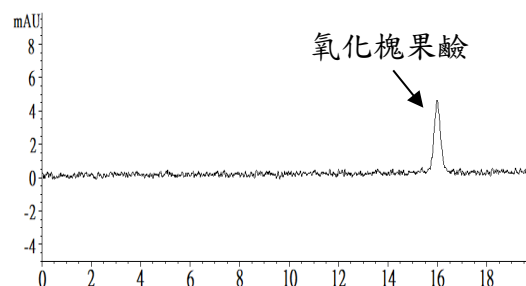
圖八、苦參鹼之偵測極限層析圖



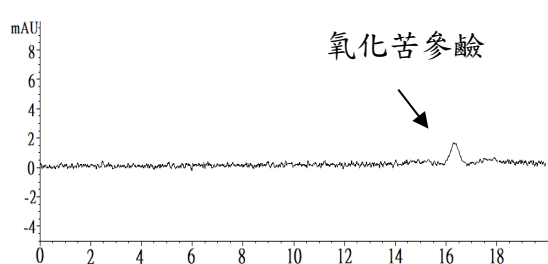
圖九、苦參鹼之定量極限層析圖



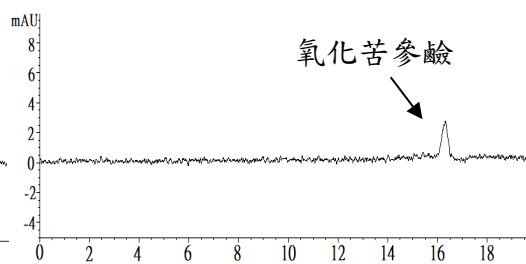
圖十、氧化槐果鹼之偵測極限層析圖



圖十一、氧化槐果鹼之定量極限層析圖



圖十二、氧化苦參鹼之偵測極限層析圖



圖十三、氧化苦參鹼之定量極限層析圖

表三、各項檢驗分析

檢測項目	苦參鹼		氧化槐果鹼	
	濃度	R.S.D. (%)	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	50 µg/mL	0.47	100 µg/mL	0.34
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.4)	3.70	檢品溶液(No.1)	1.27
穩定性 (n=5)	檢品溶液(No.4)	4.35	檢品溶液(No.1)	1.02
偵測極限(n=1)	2.0 µg/mL	-	2.0 µg/mL	-
定量極限(n=1)	5.0 µg/mL	-	5.0 µg/mL	-
檢測項目	氧化苦參鹼			
	濃度	R.S.D. (%)		
精密度 (n=5)	150 µg/mL	0.39		
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.4)	0.78		
穩定性 (n=5)	檢品溶液(No.4)	0.94		
偵測極限(n=1)	5.0 µg/mL	-		
定量極限(n=1)	15.0 µg/mL	-		

(七) 添加回收率試驗

苦參鹼平均添加回收率為 105.0%，相對標準偏差為 2.00%(表四)。氧化槐果鹼平均添加回收率為 91.8%，相對標準偏差為 3.27%(表五)。氧化苦參鹼平均添加回收率為 94.9%，相對標準偏差為 3.33%(表六)。

表四、苦參鹼添加回收率試驗

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	0.50	0.367	0.3	0.674	102.33	105.0	2.00
2	0.50	0.367	0.3	0.686	106.33		
3	0.50	0.367	0.3	0.676	103.00		
4	0.50	0.367	0.3	0.683	105.33		
5	0.50	0.367	0.3	0.691	108.00		

表五、氧化槐果鹼添加回收率試驗

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	0.50	3.746	3.0	6.615	95.63	91.8	3.27
2	0.50	3.746	3.0	6.595	94.97		
3	0.50	3.746	3.0	6.421	89.17		
4	0.50	3.746	3.0	6.396	88.33		
5	0.50	3.746	3.0	6.465	90.63		

表六、氧化苦參鹼添加回收率試驗

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	0.50	11.032	10.0	20.462	94.30	94.9	3.33
2	0.50	11.032	10.0	20.995	99.63		
3	0.50	11.032	10.0	20.003	89.71		
4	0.50	11.032	10.0	20.564	95.32		
5	0.50	11.032	10.0	20.564	95.32		

(八) 臺灣市售苦參飲片含量測定

10 批苦參藥材之含量測定結果(乾燥品)如表七與表八所示，苦參鹼的含量為 0.059–0.275%，氧化槐果鹼的含量為 0.741–0.950%，氧化苦參鹼的含量為 1.588–2.828%。建議苦參飲片指標成分苦參鹼與氧化苦參鹼的總含量不得少於 1.2%，或氧化槐果鹼與氧化苦參鹼的總含量不得少於 1.2%，或苦參鹼、氧化槐果鹼與氧化苦參鹼的總含量不得少於 1.9%。理論板數按苦參鹼波峰計算應不低於 5000 (實際值為 16000)，氧化槐果鹼波峰計算應不低於 5000 (實際值為 17000)；氧化苦參鹼波峰計算應不低於 5000 (實際值為 14000)。

表七、臺灣市售苦參檢品之苦參鹼與氧化苦參鹼含量

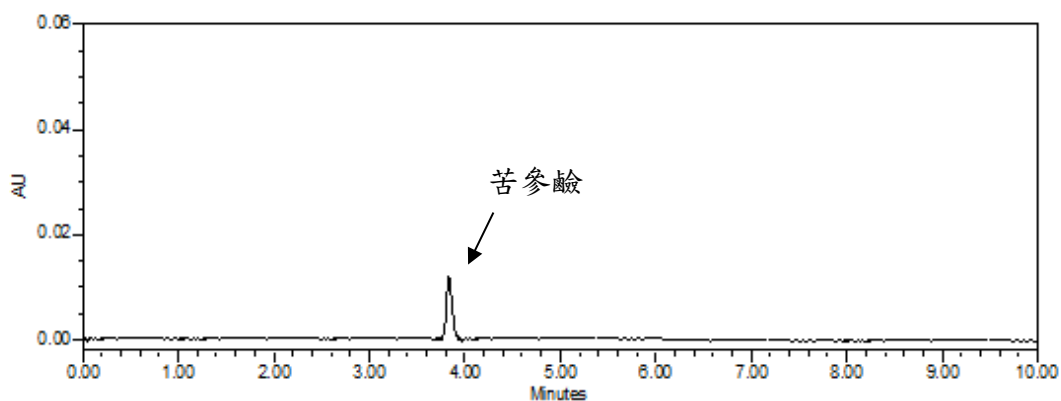
藥材編號(No.)	苦參鹼 含量(%)	氧化苦參鹼 含量(%)	苦參鹼+氧化苦參鹼 總含量(%)
1 (CA)	0.093	2.541	2.634
2 (CAB)	0.068	2.563	2.631
3 (ND)	0.064	2.100	2.164
4 (NDA)	0.059	2.303	2.362
5 (NF)	0.072	2.246	2.318
6 (NJ)	0.206	2.227	2.433
7 (NR)	0.275	2.724	2.999
8 (SAB)	0.104	2.669	2.773
9 (SU-1)	0.108	2.828	2.936
10 (SU-3)	0.078	1.588	1.666
平均值±S.D.	0.113±0.068	2.379±0.349	2.492±0.376

表八、臺灣市售苦參檢品之氧化槐果鹼含量

藥材編號(No.)	氧化槐果鹼 含量(%)	氧化苦參鹼 +氧化槐果鹼 含量(%)	苦參鹼+氧化苦參鹼 +氧化槐果鹼 總含量(%)
1 (CA)	0.782	3.323	3.416
2 (CAB)	0.950	3.513	3.581
3 (ND)	0.741	2.841	2.905
4 (NDA)	0.796	3.099	3.158
5 (NF)	0.805	3.051	3.123
6 (NJ)	0.751	2.978	3.184
7 (NR)	0.753	3.477	3.752
8 (SAB)	0.795	3.464	3.533
9 (SU-1)	0.849	3.677	3.785
10 (SU-3)	0.819	2.407	2.485
平均值±S.D.	0.804±0.058	3.183±0.363	3.292±0.383

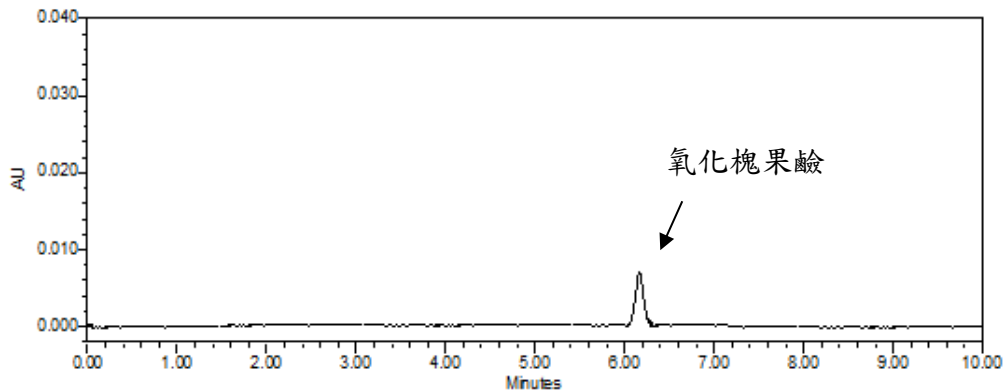
(九) 標準品苦參鹼、氧化槐果鹼與氧化苦參鹼之 UPLC 層析

於滯留時間 3.83 分鐘處顯示苦參鹼標準品的波峰(圖十四)。



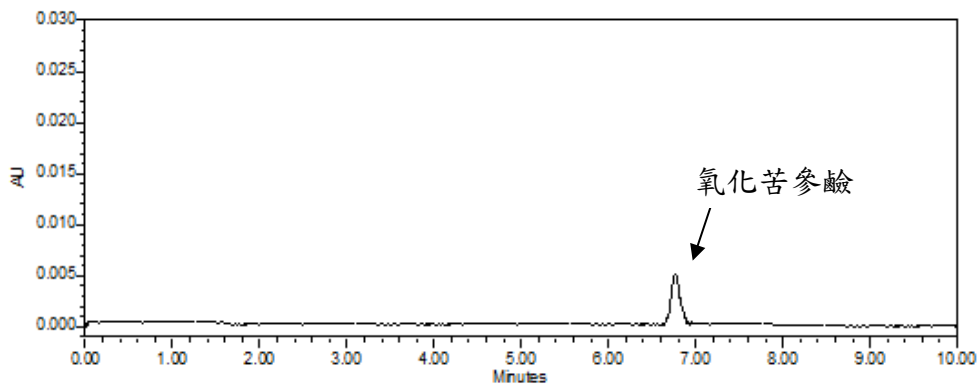
圖十四、苦參鹼標準品溶液之 UPLC 層析圖

於滯留時間 6.16 分鐘處顯示氧化槐果鹼標準品波峰(圖十五)。



圖十五、氧化槐果鹼標準品溶液之 UPLC 層析圖

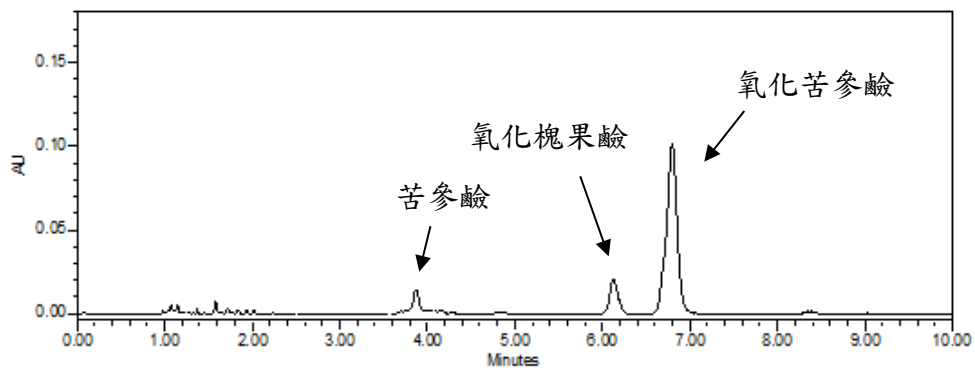
於滯留時間 6.76 分鐘處顯示氧化苦參鹼標準品的波峰(圖十六)。



圖十六、氧化苦參鹼標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十) 市售苦參飲片檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 3.81、6.12 與 6.80 分鐘處分別顯示苦參鹼、氧化槐果鹼與氧化苦參鹼的波峰(圖十七)。



圖十七、市售苦參飲片檢品之 UPLC 層析圖

苦參

生藥名：SOPHORAE FLAVESCENTIS RADIX

英文名：Lightyellow Sophora Root

基 原：本品為豆科 Leguminosae 植物苦參 *Sophora flavescens* Aiton 之乾燥根。

一、方法

- (一) 檢 品 溶 液 **【萃取方法 1】修飾《臺灣中藥典第四版 2021》**
——取本品粉末 1.0 g，加無水乙醇 10 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，作為檢品溶液。
【萃取方法 2】《香港中藥材標準第四冊》
——取本品粉末 4.0 g，加乙酸乙酯 15 mL 和濃氨試液 0.3 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，作為檢品溶液。
【萃取方法 3】(自行開發 1)
——取本品粉末 1.0 g，加無水乙醇 10 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，濾液濃縮至少量，加無水乙醇定量至 1 mL，作為檢品溶液。
【萃取方法 4】(自行開發 2) ✓
——取本品粉末 0.5 g，加甲醇 10 mL 和濃氨試液 0.3 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，濾液濃縮至少量，加甲醇定量至 1 mL，作為檢品溶液。
- (二) 對照標準品
溶 液 取苦參鹼(Matrine)、氧化苦參鹼(Oxymatrine)及氧化槐果鹼(Oxysophocarpine)對照標準品，加甲醇製成每 1 mL 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》**
——二氯甲烷：甲醇：濃氨試液 (5：0.6：0.3) 10℃ 以下放置的下層溶液。
【展開劑 2】《中華人民共和國藥典 2020》
——甲苯：丙酮：甲醇 (8：3：0.5) 展開 8 公分，晾乾。再以甲苯：乙酸乙酯：甲醇：水 (2：4：2：1) 10℃ 以下放置的上層溶液。
【展開劑 3】《香港中藥材標準第四冊》
——乙酸乙酯：無水乙醇：水：濃氨試液 (15：3.5：1：1.5)
【展開劑 4】(自行開發) ✓

- 乙酸乙酯：甲醇：濃氨試液 (12：5：2)
- (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 以碘化鉍鉀試液(Dragendorff Reagent)和亞硝酸鈉-乙醇溶液(NaNO_2 -EtOH TS)噴霧後，晾乾，置於可見光下檢視。

二、萃法選擇及濃度測試

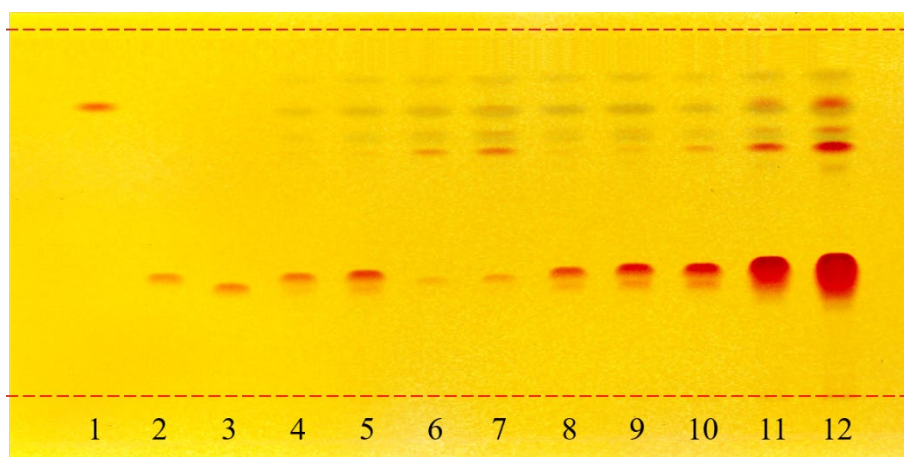
實驗日期：110/01/20

相對溼度(RH)：48%

溫度(RT)：22.3 °C

【展開劑 4】(自行開發)——乙酸乙酯：甲醇：濃氨試液 (12：5：2)

——HPTLC 碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後可見光檢出



編號	名稱	點注量
1	苦參鹼(1.0 mg /mL)	2 μ L
2	氧化苦參鹼(1.0 mg /mL)	2 μ L
3	氧化槐果鹼(1.0 mg /mL)	2 μ L
4, 5	檢品溶液 9【萃取方法 1】	5, 8 μ L
6, 7	檢品溶液 9【萃取方法 2】	5, 8 μ L
8, 9	檢品溶液 9【萃取方法 3】	5, 8 μ L
10, 11, 12	檢品溶液 9【萃取方法 4】	2, 5, 8 μ L

建議萃法：四種萃取法中，【萃取方法 4】可分離檢出苦參鹼，氧化苦參鹼與氧化槐果鹼，且方法簡單，故採用【萃取方法 4】。

建議點注量：苦參鹼 2 μ L，氧化苦參鹼 2 μ L，氧化槐果鹼 2 μ L，檢品溶液【萃取方法 4】檢出氧化苦參鹼與氧化槐果鹼 2 μ L，檢出苦參鹼 8 μ L。

三、溶媒系統選擇

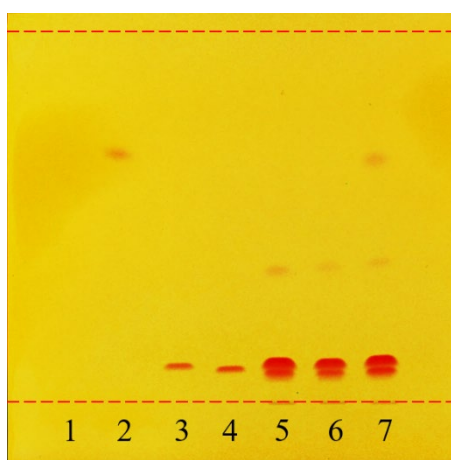
實驗日期：110/01/20

相對溼度(RH)：48%

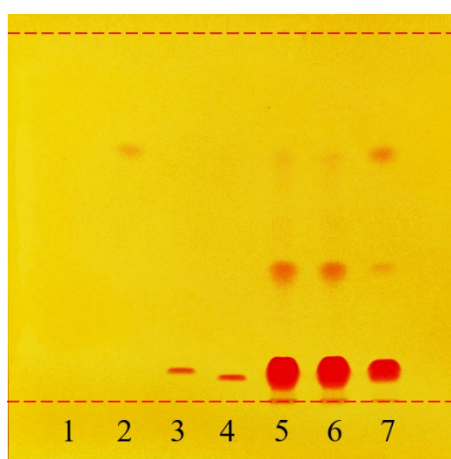
溫度(RT)：22.3 °C

【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——二氯甲烷：甲醇：濃氨試液 (5：0.6：0.3) 10°C 以下放置的下層溶液。

【萃取方法 4】(自行開發 2/點注量 2 μ L) —— HPTLC 碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後可見光檢出(苦參鹼 R_f 值為 0.67、氧化苦參鹼 R_f 值為 0.07、氧化槐果鹼 R_f 值為 0.06)

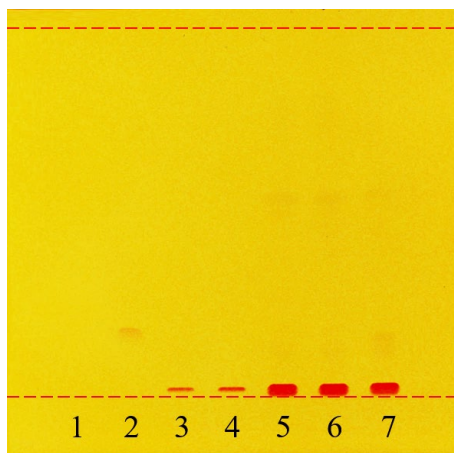


【萃取方法 4】(自行開發 2/點注量 8 μ L) —— HPTLC 碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後可見光檢出 (苦參鹼 R_f 值為 0.67、氧化苦參鹼 R_f 值為 0.07、氧化槐果鹼 R_f 值為 0.06)

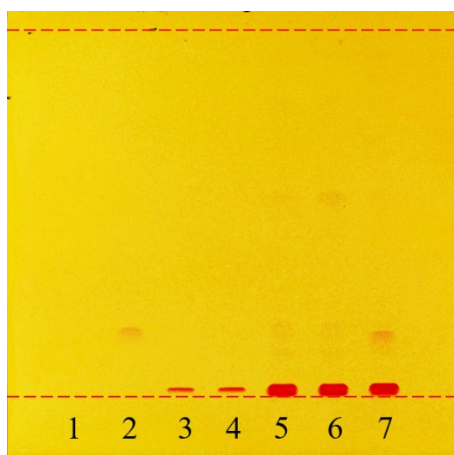


【展開劑 2】《中華人民共和國藥典 2020》——甲苯：丙酮：甲醇 (8：3：0.5) 展開 8 公分，晾乾。再以甲苯：乙酸乙酯：甲醇：水 (2：4：2：1) 10℃ 以下放置的上層溶液。

【萃取方法 4】(自行開發 2/點注量 2 μ L) —— HPTLC 碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後可見光檢出(苦參鹼 R_f 值為 0.17、氧化苦參鹼 R_f 值為 0、氧化槐果鹼 R_f 值為 0)

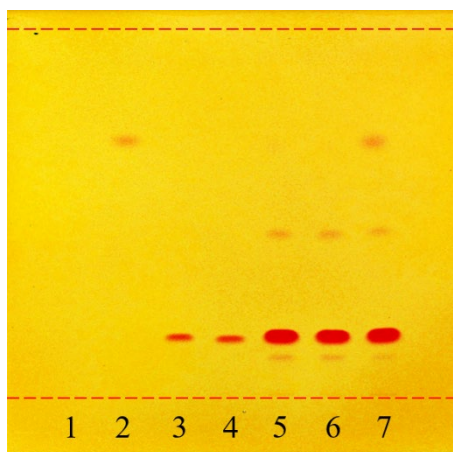


【萃取方法 4】(自行開發 2/點注量 8 μ L) —— HPTLC 碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後可見光檢出(苦參鹼 R_f 值為 0.17、氧化苦參鹼 R_f 值為 0、氧化槐果鹼 R_f 值為 0)

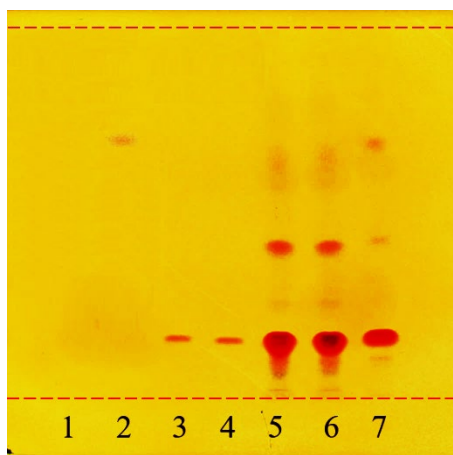


【展開劑 3】《香港中藥材標準第四冊》——乙酸乙酯：無水乙醇：水：濃氨試液 (15：3.5：1：1.5)

【萃取方法 4】(自行開發 2/點注量 2 μ L) —— HPTLC 碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後可見光檢出(苦參鹼 R_f 值為 0.70、氧化苦參鹼 R_f 值為 0.15、氧化槐果鹼 R_f 值為 0.14)

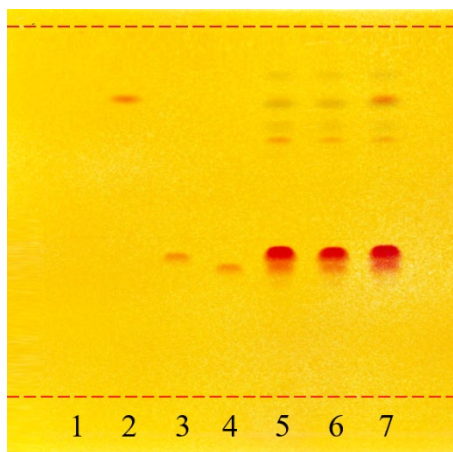


【萃取方法 4】(自行開發 2/點注量 8 μ L) —— HPTLC 碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後可見光檢出 (苦參鹼 R_f 值為 0.7、氧化苦參鹼 R_f 值為 0.15、氧化槐果鹼 R_f 值為 0.14)

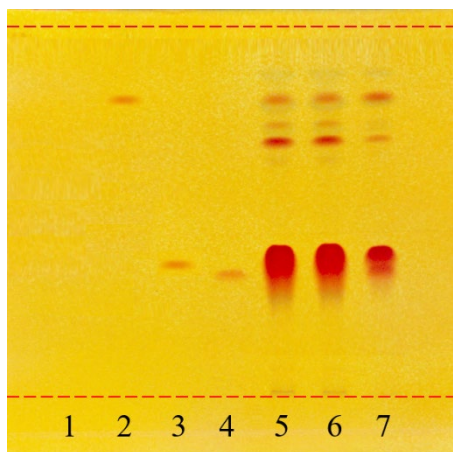


【展開劑 4】(自行開發)——乙酸乙酯：甲醇：濃氨試液 (12：5：2)

【萃取方法 4】(自行開發 2/點注量 2 μ L)—— HPTLC 碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後可見光檢出 (苦參鹼 R_f 值為 0.78、氧化苦參鹼 R_f 值為 0.37、氧化槐果鹼 R_f 值為 0.34) ✓



【萃取方法 4】(自行開發 2/點注量 8 μ L)—— HPTLC 碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後可見光檢出 (苦參鹼 R_f 值為 0.78、氧化苦參鹼 R_f 值為 0.37、氧化槐果鹼 R_f 值為 0.34) ✓



- | | |
|---------|------------|
| 1：Blank | 4：氧化槐果鹼 |
| 2：苦參鹼 | 5，6：檢品溶液 9 |
| 3：氧化苦參鹼 | 7：Spike |

建議溶媒系統：以【萃取方法 4】方式，僅【展開劑 4】可從檢品溶液中分離與檢出苦參鹼，氧化苦參鹼及氧化槐果鹼，且分離效果較佳且條帶也較多，故採用【展開劑 4】。

四、觀察方式選擇

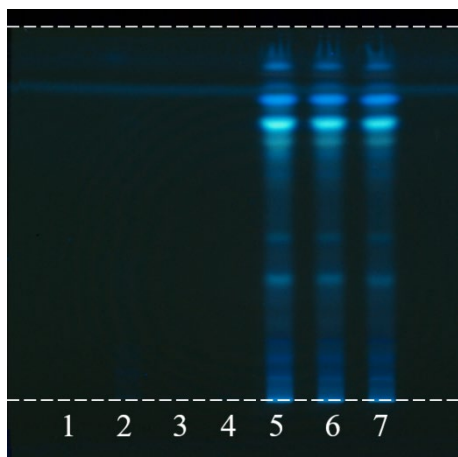
實驗日期：110/01/20

相對溼度(RH)：48%

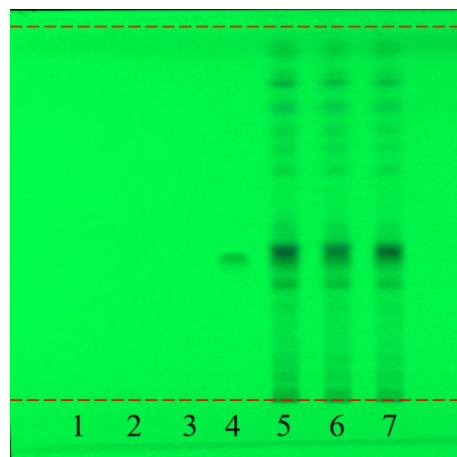
溫度(RT)：22.3 °C

【展開劑 4】(自行開發)——乙酸乙酯：甲醇：濃氨試液 (12：5：2)

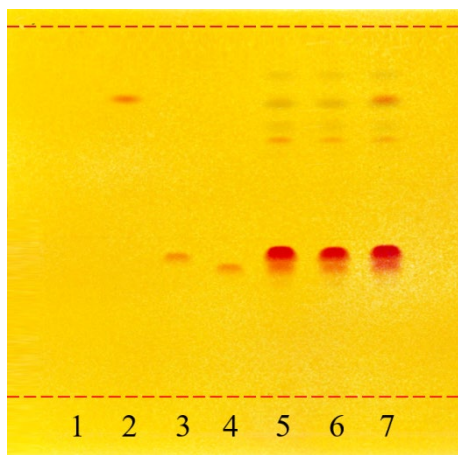
【萃取方法 4】(自行開發 2/點注量 2 μL) —HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



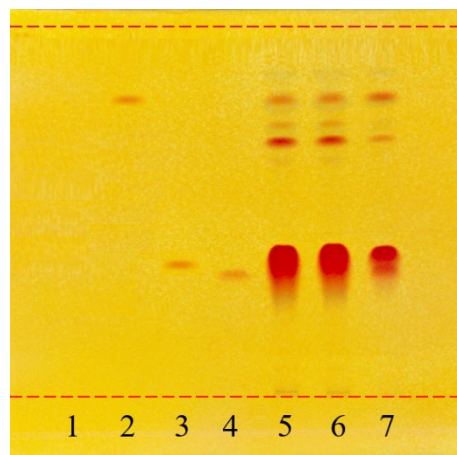
【萃取方法 4】(自行開發 2/點注量 2 μL) —HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



【萃取方法 4】(自行開發 2/點注量 2 μL) —HPTLC HPTLC 碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後可見光檢出✓



【萃取方法 4】(自行開發 2/點注量 8 μL) —HPTLC 碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後可見光檢出✓



1：Blank

4：氧化槐果鹼

2：苦參鹼

5，6：檢品溶液 9

3：氧化苦參鹼

7：Spike

建議觀察方式：碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後可見光檢出，顯示有較明顯分離之條帶。

五、十批苦參藥材樣品檢測

實驗日期：110/01/20

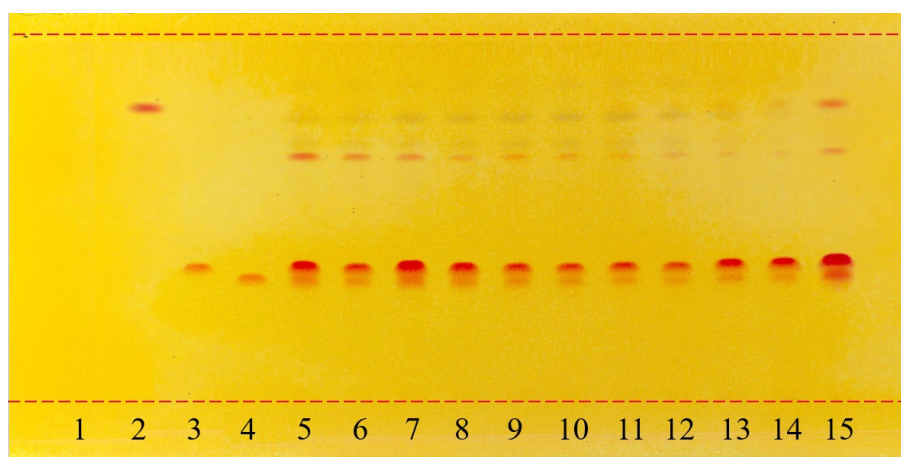
相對溼度(RH)：48%

溫度(RT)：22.3 °C

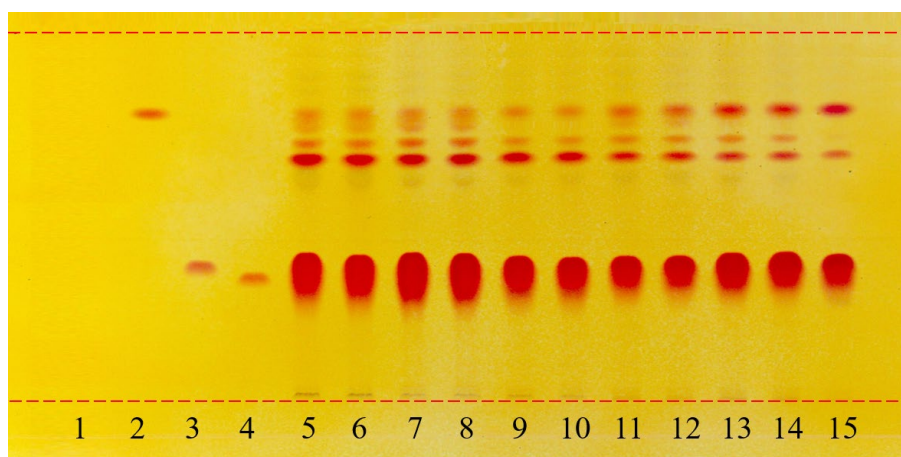
【展開劑 4】(自行開發)——乙酸乙酯：甲醇：濃氨試液 (12：5：2)

【萃取方法 4】(自行開發 2)——HPTLC 碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後可見光檢出

(1)碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後可見光檢出/點注量 2 μ L



(2) 碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉/乙醇溶液顯色後可見光檢出/點注量 8 μ L

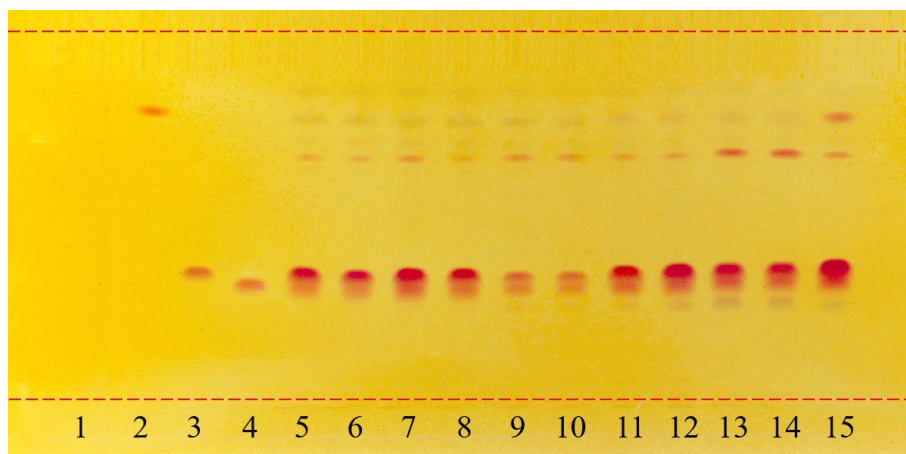


1	Blank	7, 8	檢品溶液 2 (NDA)
2	苦參鹼(1.0 mg/mL)	9, 10	檢品溶液 3 (NF)
3	氧化苦參鹼(1.0 mg/mL)	11, 12	檢品溶液 4 (NJ)
4	氧化槐果鹼(1.0 mg/mL)	13, 14	檢品溶液 5 (NR)
5, 6	檢品溶液 1 (ND)	15	Spike (檢品溶液 9)

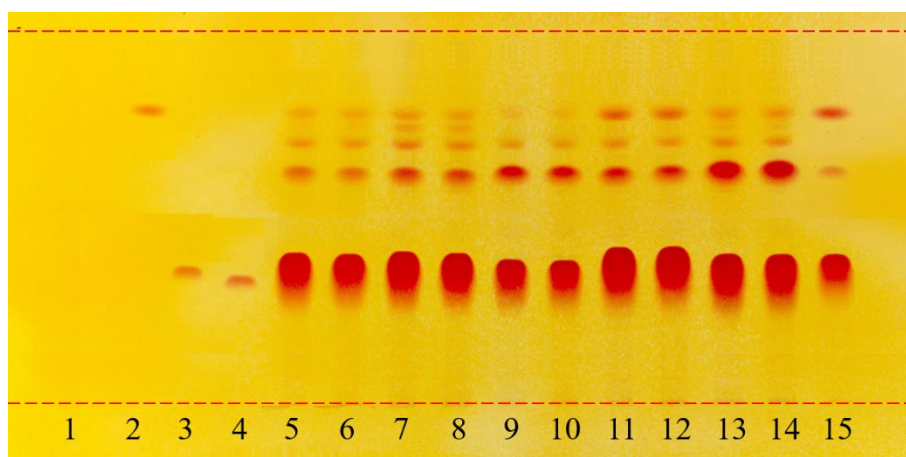
【展開劑 4】(自行開發)——乙酸乙酯：甲醇：濃氨試液 (12：5：2)

【萃取方法 4】(自行開發 2)——HPTLC 碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後可見光檢出

(1) 碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後可見光檢出/點注量 2 μ L



(2) 碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後可見光檢出/點注量 8 μ L



1	Blank	7, 8	檢品溶液 7 (CAB)
2	苦參鹼(1.0 mg/mL)	9, 10	檢品溶液 8 (SAB)
3	氧化苦參鹼(1.0 mg/mL)	11, 12	檢品溶液 9 (SU1)
4	氧化槐果鹼(1.0 mg/mL)	13, 14	檢品溶液 10 (SU3)
5, 6	檢品溶液 6 (CA)	15	Spike (檢品溶液 9)

結論與建議：以【萃取方法 4】及【展開劑 4】方式，顯示分離與檢出苦參鹼，氧化苦參鹼及氧化槐果鹼效果較佳，以碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後，於可見光下檢視較佳。

苦參(飲片)

六、十批苦參飲片樣品檢測

實驗日期：110/04/21

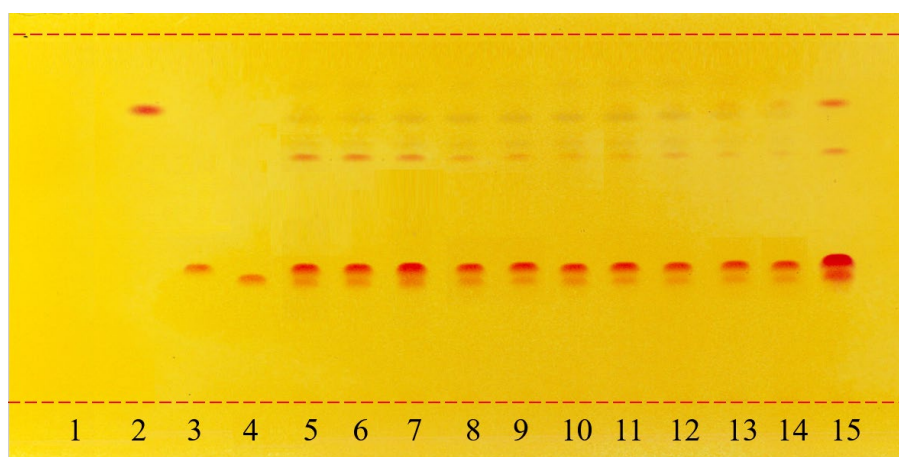
相對溼度(RH)：54%

溫度(RT)：24.1 °C

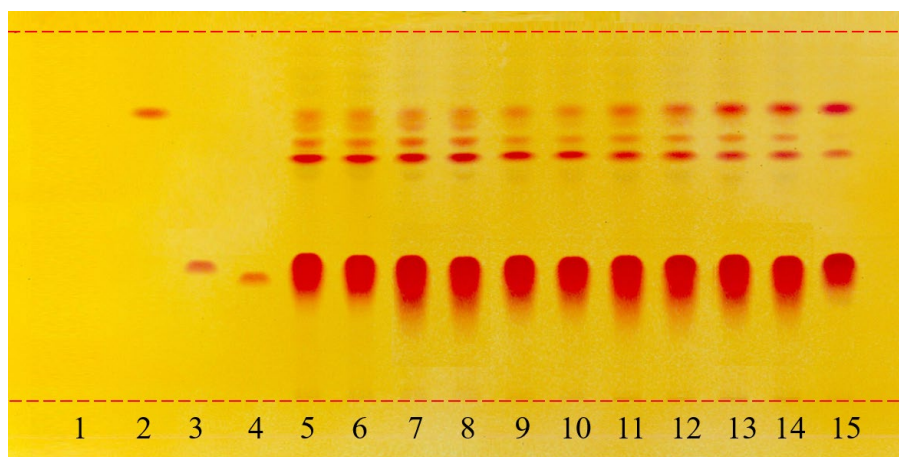
【展開劑 4】(自行開發)——乙酸乙酯：甲醇：濃氨試液 (12：5：2)

【萃取方法 4】(自行開發 2)——HPTLC 碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液
顯色後可見光檢出

(1) 碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後可見光檢出/點注量 2 μ L



(2) 碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後可見光檢出/點注量 8 μ L

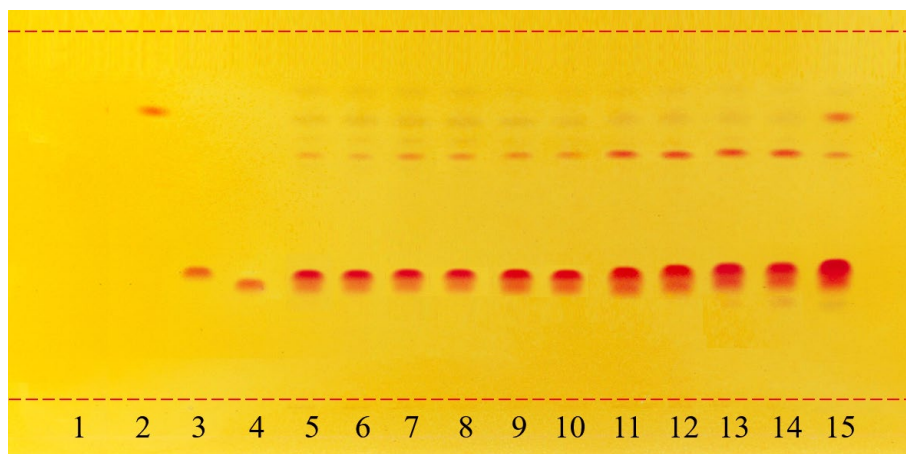


1	Blank	7, 8	檢品溶液 2 (NDA)
2	苦參鹼(1.0 mg/mL)	9, 10	檢品溶液 3 (NF)
3	氧化苦參鹼(1.0 mg/mL)	11, 12	檢品溶液 4 (NJ)
4	氧化槐果鹼(1.0 mg/mL)	13, 14	檢品溶液 5 (NR)
5, 6	檢品溶液 1 (ND)	15	Spike (檢品溶液 9)

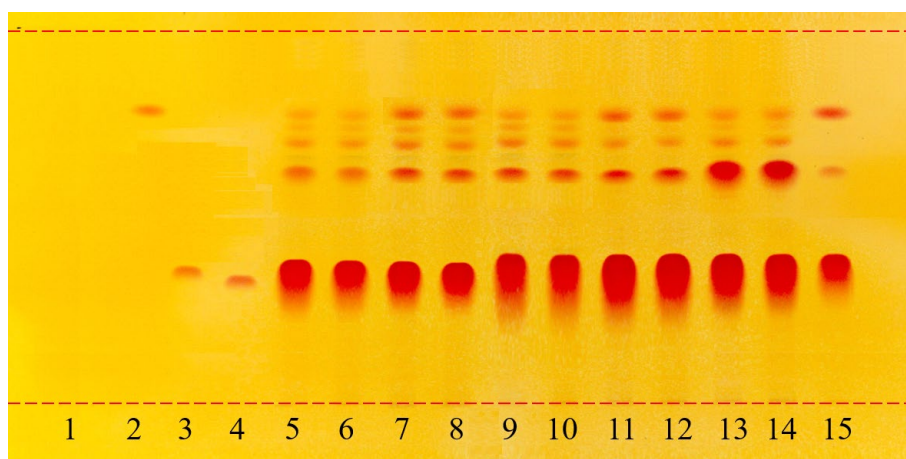
【展開劑 4】(自行開發)——乙酸乙酯：甲醇：濃氨試液 (12：5：2)

【萃取方法 4】(自行開發 2)——HPTLC 碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後可見光檢出

(1) 碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後可見光檢出/點注量 2 μ L



(2) 碘化鉍鉀試液和亞硝酸鈉-乙醇試液顯色後可見光檢出/點注量 8 μ L



1	Blank	7, 8	檢品溶液 7 (CAB)
2	苦參鹼(1.0 mg/mL)	9, 10	檢品溶液 8 (SAB)
3	氧化苦參鹼(1.0 mg/mL)	11, 12	檢品溶液 9 (SU1)
4	氧化槐果鹼(1.0 mg/mL)	13, 14	檢品溶液 10 (SU3)
5, 6	檢品溶液 6 (CA)	15	Spike (檢品溶液 9)

結論與建議：飲片鑑別同藥材。