

枳殼

(CITRI FRUCTUS IMMATURUS)

枳殼 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

枳殼(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.....	11

枳殼(飲片)HPLC

一、材料.....	21
二、儀器及層析管柱.....	21
三、實驗藥品及試劑來源.....	21
四、方法.....	21
五、結果.....	24

枳殼(藥材+飲片)TLC

一、方法.....	28
二、萃法選擇及濃度測試.....	29
三、溶媒系統選擇.....	30
四、觀察方式選擇.....	32
五、十批枳殼藥材樣品檢測.....	33
六、十批枳殼飲片樣品檢測.....	35

枳殼

(CITRI FRUCTUS IMMATURUS)

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酸橙的乾燥未成熟果實。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：枳殼

生藥名：CITRI FRUCTUS IMMATURUS

英文名：Bitter Orange

基原：本品為芸香科 Rutaceae 植物酸橙 *Citrus aurantium* L. 及其栽培變種之乾燥未成熟果實。

採收加工：7 月中旬至 8 月中旬，分批採收果皮尚綠、剖面直徑在 3~5 cm 之間的未成熟果實，自中部橫切成兩瓣，曬乾或低溫乾燥。

藥材性狀：本品呈半球形，直徑 3~5 cm。外表面褐色或棕褐色，略粗糙，有顆粒狀突起，突起的頂端有凹點狀油室，有明顯的花柱殘跡或果梗痕。切面中果皮黃白色，光滑而稍隆起，厚 4~13 mm，邊緣散有 1~2 列油室。質堅硬，不易折斷。瓢囊 7~12 瓣，少數至 15 瓣，汁囊乾縮呈棕色至棕褐色，內藏種子。中軸堅實，寬 5~9 mm，黃白色，有一圈斷續環列的維管束點。氣清香，味苦、微酸。

飲片性狀：為不規則長條形薄片，切面外果皮棕褐色或綠褐色，中果皮黃白色或黃棕色，近外緣有 1~2 列點狀油室，內側有深褐色瓢囊。

生長分佈：多年生木本。喜溫暖濕潤的氣候，較耐寒、耐高溫，多栽培於陽光充足，雨量充沛，排水良好的沙質或礫質土壤。花期 3~4 月，果熟期 10 月。分布於四川、江西、湖南、江蘇、浙江、廣東、貴州等地，多為栽培。

三、藥材組織顯微鑑別 (圖 2)

1. 表皮細胞 1 列，無絨毛。
2. 油室不規則排成 1~2 列，呈類圓形或橢圓形。
3. 中果皮薄壁細胞，壁大多不均勻增厚，有較大細胞間隙。
4. 維管束縱橫散布。
5. 薄壁組織散有多數草酸鈣方晶。

四、藥材粉末顯微鑑別 (圖 3)

1. 本品粉末黃白色或棕黃色。
2. 中果皮薄壁細胞形狀不一，壁大多不均勻增厚，8~16 μm 。
3. 外果皮表皮細胞表面觀多角形、方形或狹長，長 20~32 μm ，直徑約至 13 μm ，氣孔類圓形。
4. 螺紋導管可見，直徑 15~25 μm 。
5. 薄壁組織散有多數草酸鈣方晶，直徑 20 μm ，偏光顯微鏡下呈多彩色。



圖 1A 枳殼藥材圖



圖 1B 枳殼飲片藥材圖

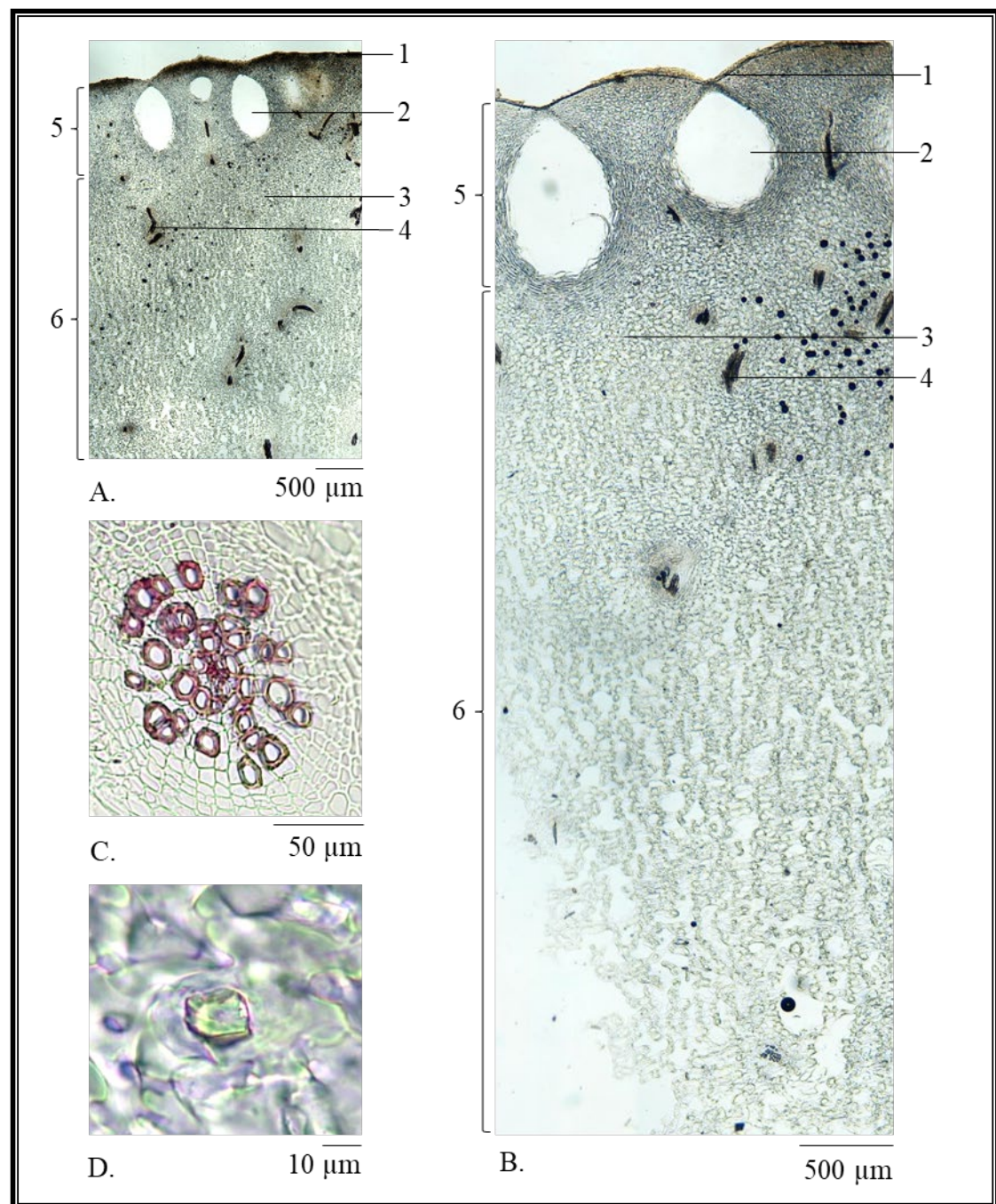


圖 2 枳殼橫切面顯微特徵圖

A.橫切面 B.橫切面放大圖 C.維管束 D.草酸鈣方晶

1.表皮 2.油室 3.薄壁細胞 4.維管束 5.外果皮 6.中果皮

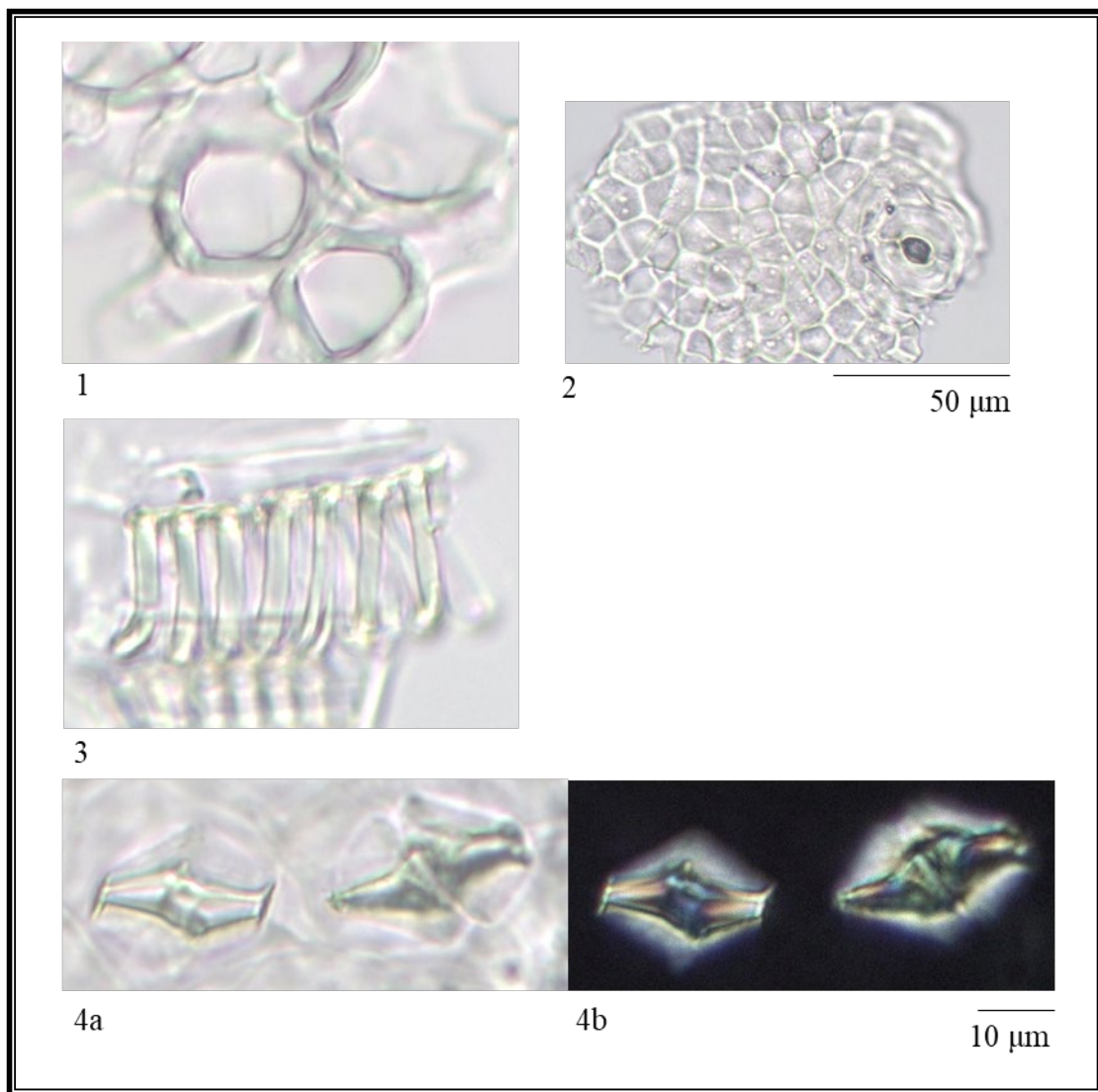


圖 3 枳殼粉末顯微特徵圖

a. 光學顯微鏡下特徵 b. 偏光顯微鏡下特徵

1. 中果皮碎片 2. 果皮表皮及氣孔 3. 螺紋導管 4. 草酸鈣方晶

參考文獻

1. 衛生福利部臺灣中藥典第四版編輯工作小組編纂(2021)。臺灣中藥典第四版。台北市：衛生福利部。205~206 頁。
2. 行政院衛生署中醫藥委員會編(1999)。中藥材品質管制：組織型態學鑑定。台北市：行政院衛生署中醫藥委員。115~116 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(2011)。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。45~56 頁。
4. 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。229~230 頁。
5. 肖培根等編輯(2002)。新編中藥志第二卷。北京：化學工業出版社。443~452 頁。
6. 戴新民(1987)。現代本草中國藥材學下冊。啟業書局。867~869 頁。
7. 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。442~443 頁。
8. 王崢濤、謝培山主編(2013)。中藥材質量專論。上海科學技術出版社。166~173 頁。
9. 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。407~409 頁。
10. 徐國均、徐珞珊、王崢濤主編(1997)。常用中藥材品種整理和質量研究第四冊。福建科學技術出版社。274~298 頁。

枳殼(CITRI FRUCTUS IMMATURUS)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店枳殼藥材共 10 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Waters 2695 Separation Module，包含 Waters 2996、Photodiode Array Detector；層析管柱 COSMOSIL 5C₁₈ AR-II-C18 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

乙腈(99.9%)購自於 Sigma-Aldrich；甲醇(HPLC grade)購自於 Merck；85% 磷酸購自於 Sigma。

(二) 標準品

柚皮苷(Naringin)來自於中藥司，純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取條件評估

取本品粉末 2 份，每份準確稱取 0.2 g，分別置 125 mL 三角瓶中，準確加入甲醇 100 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 15 分鐘、1 小時；另取本品粉末 1 份置 200 mL 圓底瓶中，準確加入甲醇 100 mL，加熱迴流 1 小時，以 No. 1 濾紙過濾，取濾液移入 100 mL 容量瓶中，加入溶媒至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 μm)，即得。每針 10 μL 注入高效能液相層析儀(HPLC)，以所測得每克重量之標準品柚皮苷最大波峰面積為最佳枳殼萃取溶媒。

(二) 最佳萃取時間評估

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)4 份，每份準確稱取 0.2 g，置 200 mL 圓底瓶中，準確加入甲醇 100 mL，加熱迴流 1 小時、2 小時、3 小時、

4 小時，冷卻後以 No.1 濾紙過濾，取濾液移入 100 mL 容量瓶中，加入甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 μ m)，即得。每針 10 μ L 注入 HPLC，並選出最佳萃取時間。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取標準品柚皮苷 3.0 mg，加 10 mL 的甲醇製成每 1 mL 含柚皮苷 300 μ g 的標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至 60 μ g/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 0.2 g，置 200 mL 圓底瓶中，準確加入甲醇 100 mL，加熱迴流 1 小時，冷卻後以 No.1 濾紙過濾，取濾液移入 100 mL 容量瓶中，加入甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 μ m)，即得。

(五) 測定法

分別準確吸取對照標準品溶液、檢品溶液 10 μ L，注入 HPLC，測定，用標準曲線分別計算溶液中柚皮苷的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取柚皮苷標準品儲備溶液適量(300 μ g/mL)，以甲醇稀釋成含柚皮苷分別為 150、100、60、30、15、5.0 μ g/mL 的標準品溶液。以上溶液各取 10 μ L 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

以柚皮苷為 60 μ g/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以柚皮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：取同一批市售枳殼藥材粉末，依枳殼藥材檢品溶液製備方法平行製備 5 份枳殼檢品溶液，進樣測定，以柚皮苷的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售枳殼藥材粉末，依枳殼藥材檢品溶液製備方法製備枳殼檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以柚皮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

取已知柚皮苷含量的枳殼藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 0.2 g，分別加入 8.0 mg 的柚皮苷，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-C18 Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：UV 283 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(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	20	80
30	20	80

(十二) 臺灣市售枳殼藥材含量測定

取 10 批市售枳殼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 公式計算樣品柚皮苷的百分含量。

(十三) 枳殼檢品之 UPLC 層析條件

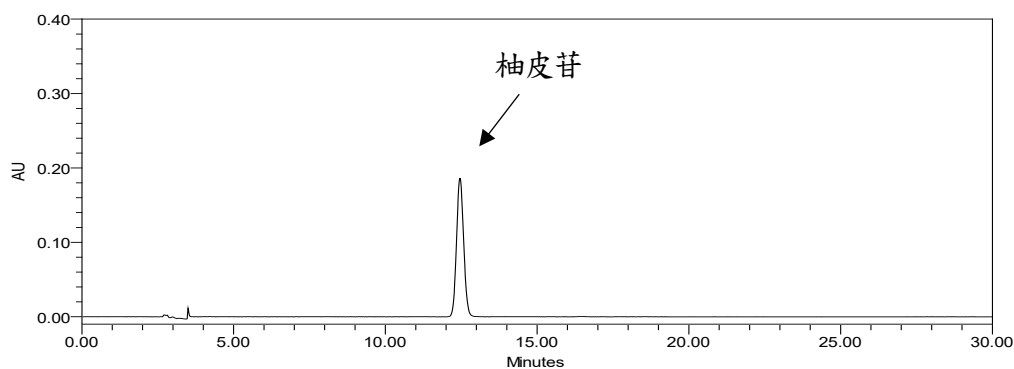
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 283 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	20	80
10	20	80

五、結果

(一) 標準品柚皮苷之 HPLC 層析

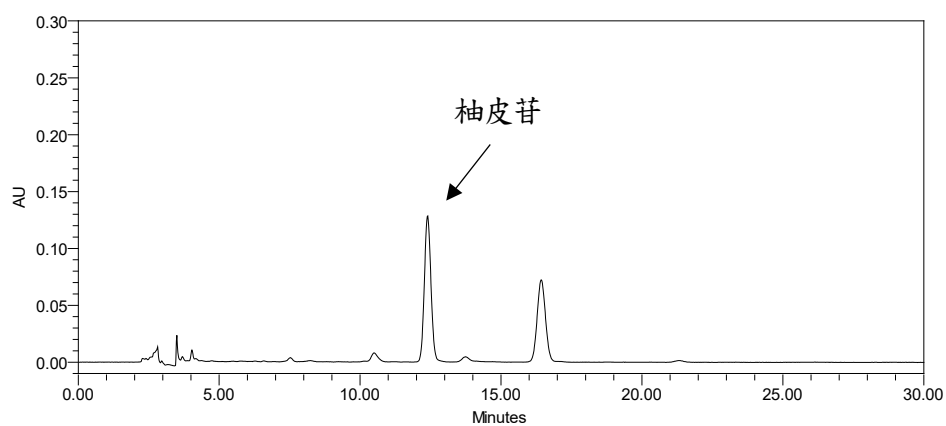
於滯留時間 12.45 分鐘處顯示柚皮苷標準品波峰(圖一)。



圖一、柚皮苷標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售枳殼藥材檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 12.39 分鐘處顯示枳殼藥材檢品中柚皮苷波峰(圖二)。柚皮苷分離率(R)為 4.43，拖尾因子(T)為 1.07，均在系統適用性要求內。



圖二、市售枳殼藥材檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳萃取條件評估

加熱迴流處理 1 小時條件下，每克藥材重量所得柚皮苷的波峰面積比超音波振盪 1 小時為大，顯示加熱迴流處理 1 小時為最佳萃取條件。

表一、不同溶媒萃取比較

溶媒	柚皮苷波峰面積	最佳萃取
超音波振盪 15 分鐘	1561621	

超音波振盪 1 小時	1976403	
加熱迴流 1 小時	2124861	√

(四) 最佳萃取時間評估

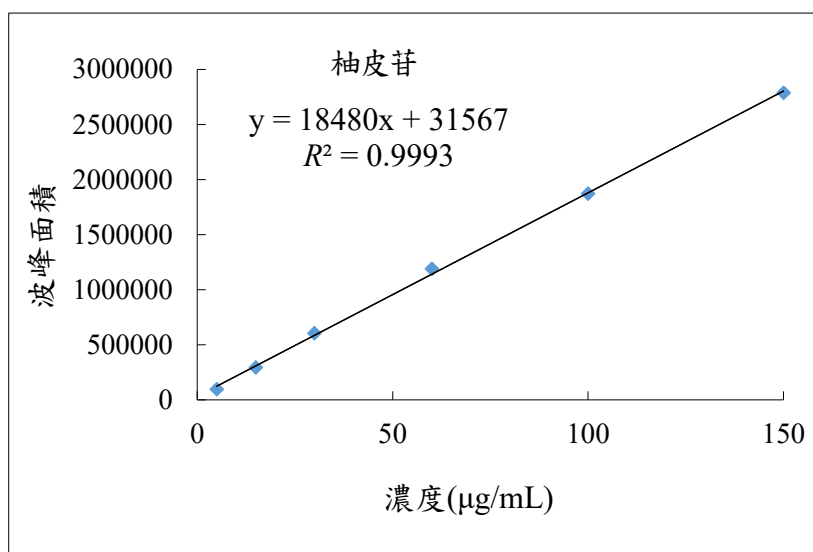
結果顯示加熱迴流萃取 1 小時所得柚皮苷的波峰面積最大，基本上已將柚皮苷萃取完全，因此選擇加熱迴流萃取 1 小時是最佳萃取時間。

表二、枳殼藥材檢品萃取時間評估

加熱迴流時間	柚皮苷波峰面積	最佳萃取
1 小時	2009355	√
2 小時	1925924	
3 小時	1808038	
4 小時	1737441	

(五) 標準品柚皮苷檢量線

經不同濃度柚皮苷(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 $y = 18480x + 31567$ ， $R^2 = 0.9993$ ，顯示濃度在 5.0–150 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、柚皮苷之檢量線圖

表三、柚皮苷之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
柚皮苷	5.0–150	$y = 18480x + 31567$	0.9993

(六) 精密度試驗

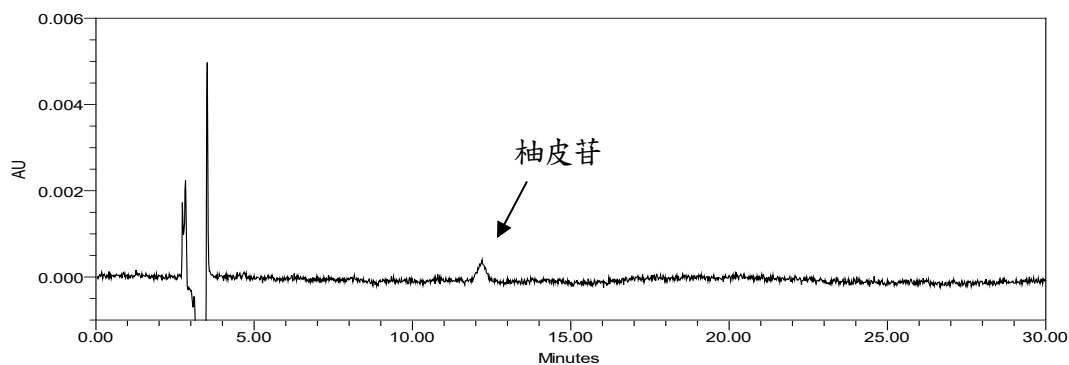
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，柚皮苷精密度之相對標準差為 0.11%，在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

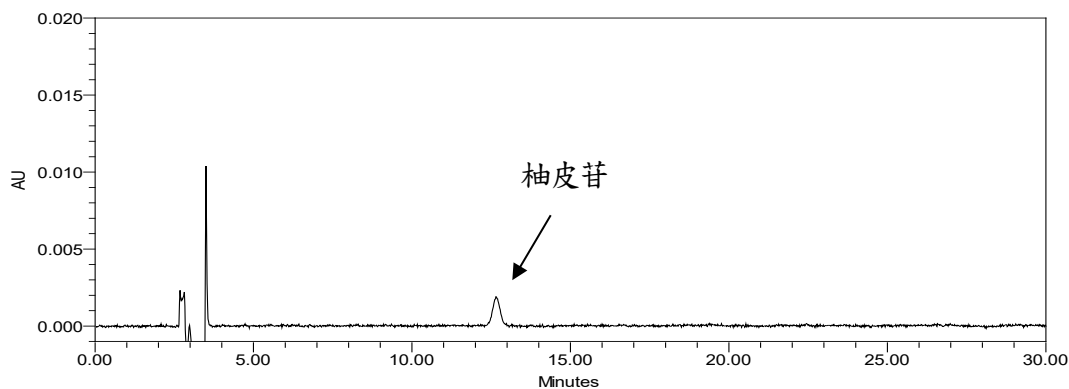
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，柚皮苷重複性之相對標準差為 2.49%，在系統適用性要求內。柚皮苷在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準為 1.70%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

柚皮苷偵測極限為 0.3 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 1.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、柚皮苷之偵測極限層析圖



圖五、柚皮苷之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	柚皮苷	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	60 $\mu\text{g/mL}$	0.11
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.6)	2.49

穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.6)	1.70
偵測極限 (n=3)	0.3 µg/mL	-
定量極限 (n=3)	1.0 µg/mL	-

(九) 添加回收率試驗

柚皮苷平均添加回收率為 94.0%，相對標準偏差為 2.13%。

表五、柚皮苷添加回收率

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	0.20	7.5675	8.0	15.2607	96.17	94.04	2.13
2	0.20	7.5675	8.0	14.9476	92.25		
3	0.20	7.5675	8.0	15.0178	93.13		
4	0.20	7.5675	8.0	15.2658	96.23		
5	0.20	7.5675	8.0	14.9603	92.41		

(十) 臺灣市售枳殼藥材含量測定

10 批枳殼藥材之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，柚皮苷的含量為 4.118–5.896%，建議枳殼藥材指標成分柚皮苷的含量不得少於 2.5%。理論板數按柚皮苷波峰計算應不低於 5000 (實際值為 13205)。

表六、臺灣市售枳殼檢品之柚皮苷的含量

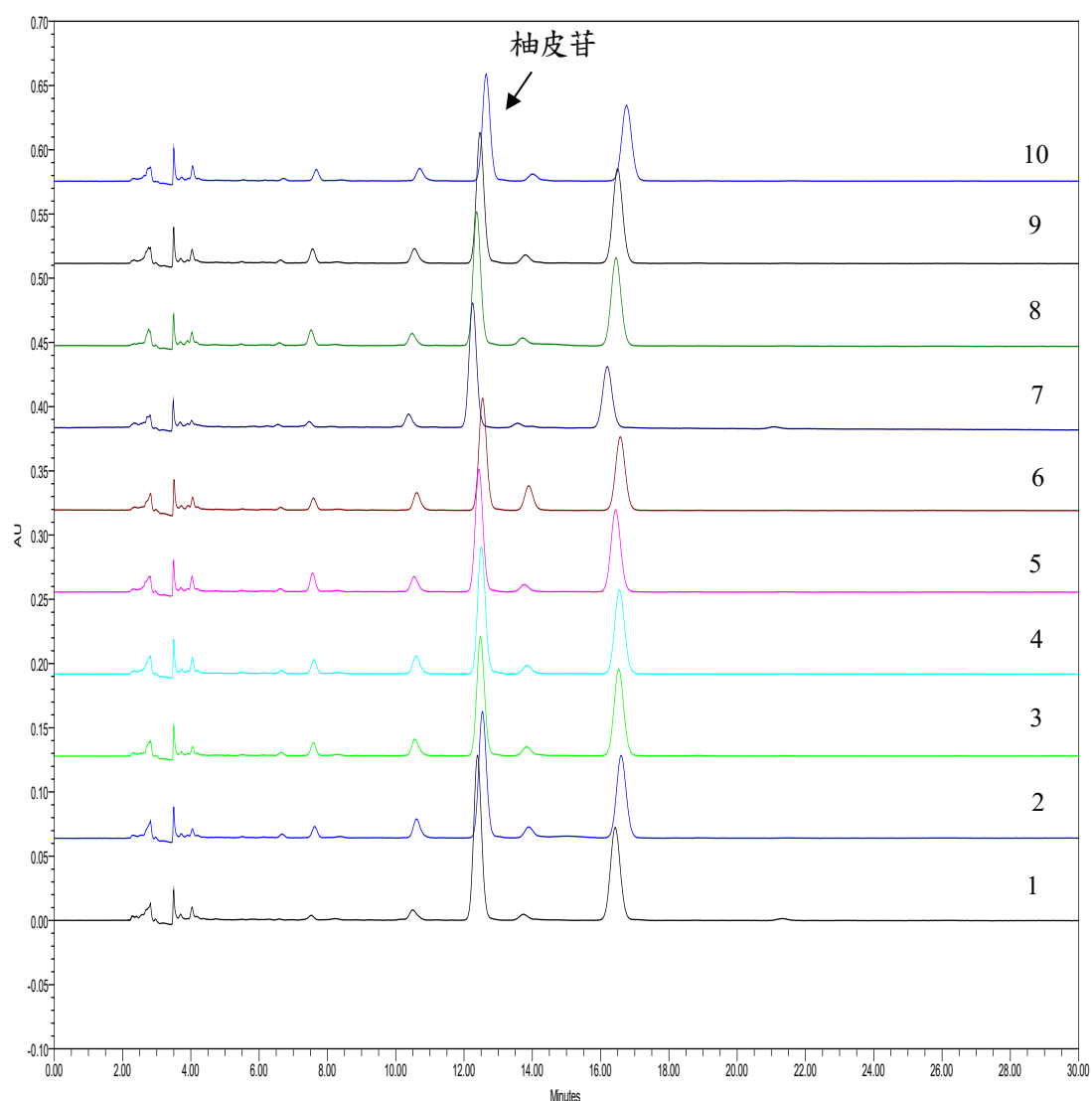
藥材編號(No.)	柚皮苷含量(%)
1 (ND)	5.896
2 (NP)	4.636
3 (NR-1)	4.864
4 (NZ)	4.274
5 (CA)	4.592
6 (CB)	4.118
7 (SA2)	4.638
8 (SB)	5.127
9 (SC2)	4.971
10 (SU2-D)	4.799
平均值±S.D.	4.792±0.492

(十一) 枳殼藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售枳殼藥材檢品溶液各 10 μ L 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：COSMOSIL 5C₁₈ AR-II-C18 Column (250 $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 283 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：

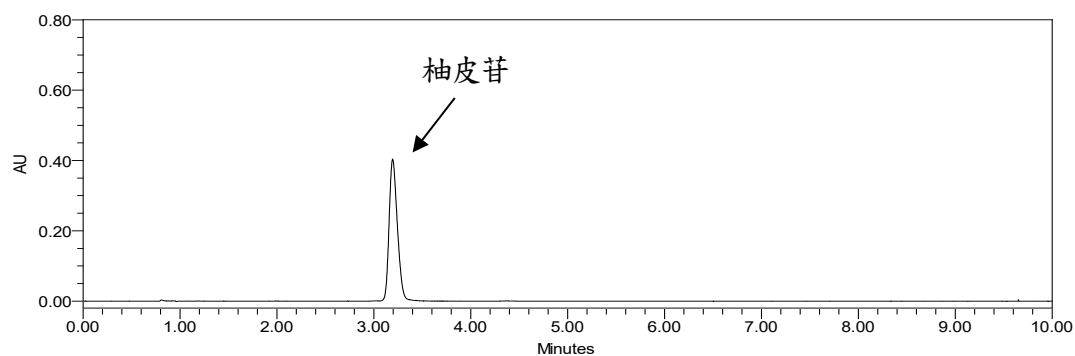
時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	20	80
30	20	80



圖六.、10 批枳殼藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 標準品柚皮苷之 UPLC 層析

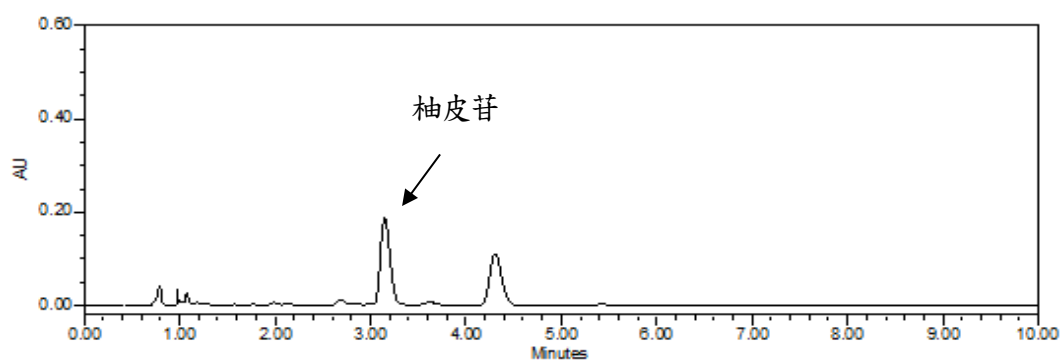
於滯留時間 3.19 分鐘處顯示柚皮苷標準品的波峰(圖七)。



圖七、柚皮苷標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售枳殼藥材檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 3.14 分鐘處顯示枳殼藥材檢品中柚皮苷的波峰(圖八)。

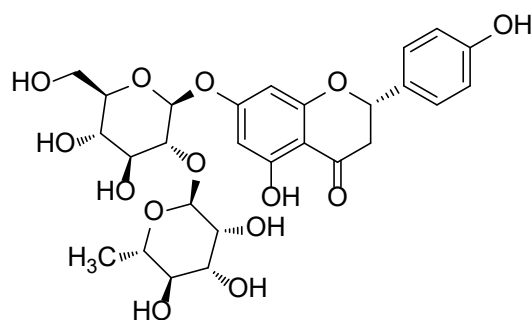


圖八、市售枳殼藥材檢品之 UPLC 層析圖

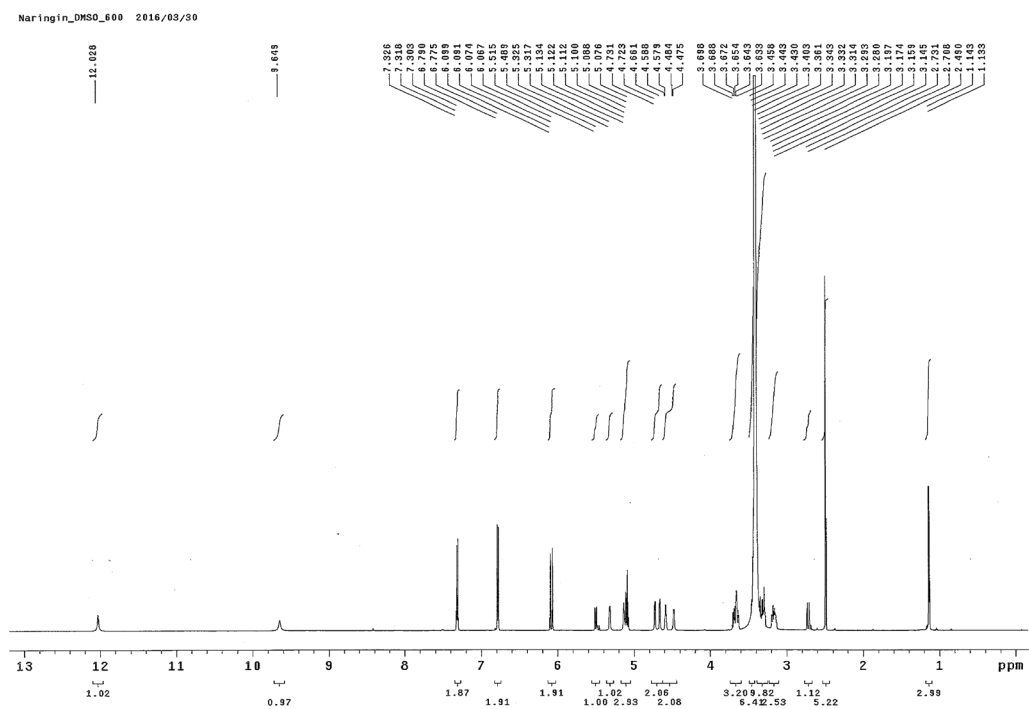
(十四) 柚皮苷的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{27}H_{32}O_{14}$ ；分子量：580.54；熔點：166–168 °C；淡黃色粉末。

(十五) 柚皮苷的結構

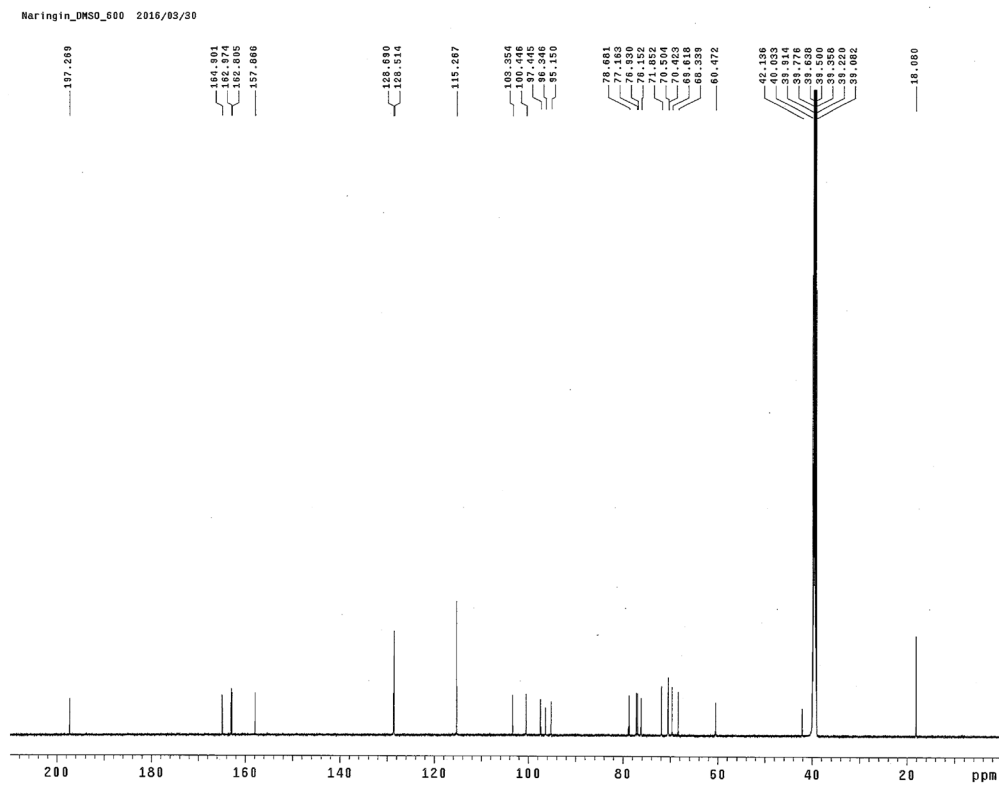


(十六) 柚皮苷的 ^1H NMR 圖譜



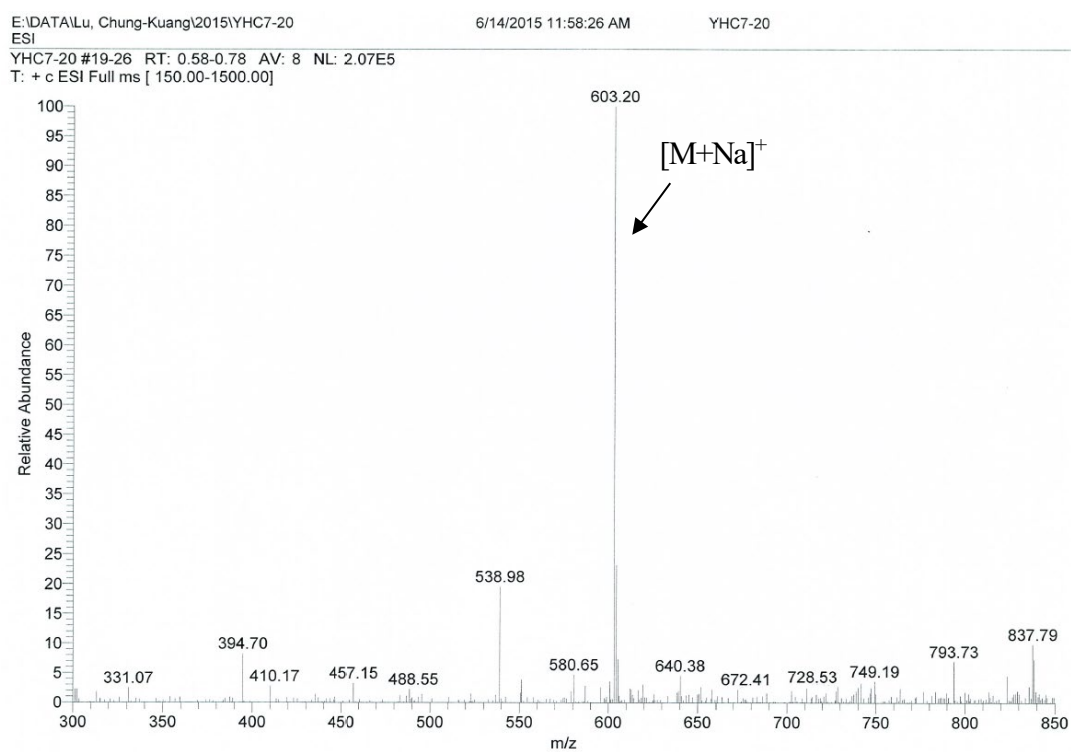
圖九、柚皮苷的 ^1H NMR 圖譜(DMSO- d_6)

(十七) 柚皮苷的 ^{13}C NMR 圖譜



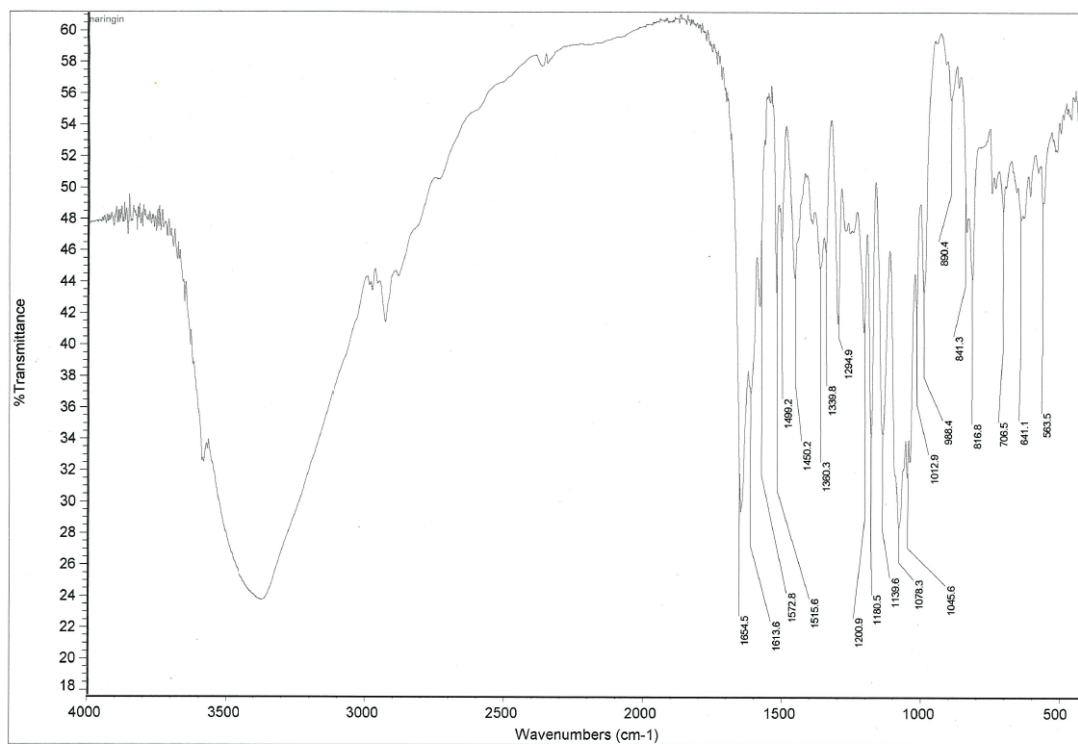
圖十、柚皮苷的 ^{13}C NMR 圖譜(DMSO- d_6)

(十八) 柚皮苷的 ESI-MS 圖譜



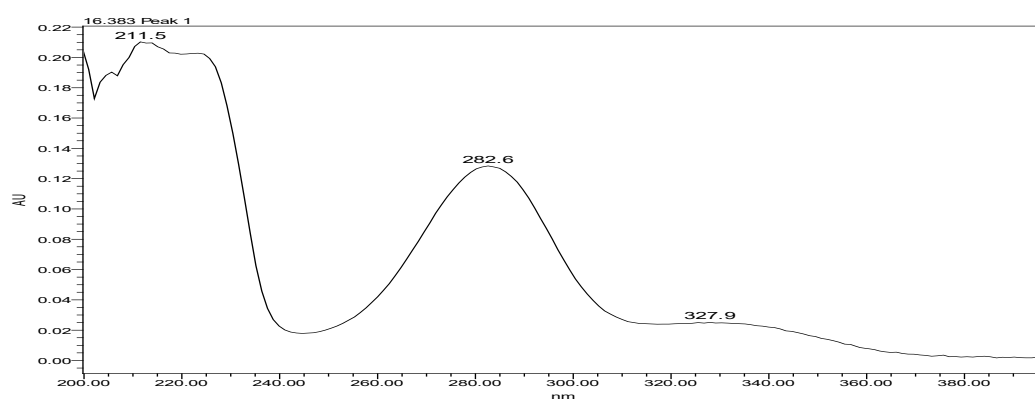
圖十一、柚皮苷的 ESI-MS 圖譜

(十九) 柚皮苷的 FTIR 圖譜



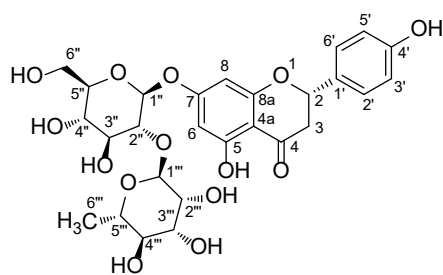
圖十二、柚皮苷的 FTIR 圖譜

(二十) 柚皮苷的 UV 圖譜



圖十三、柚皮苷的 UV 圖譜

(二十一) 柚皮苷的氫、碳化學位移



柚皮苷

表七、柚皮苷的氫、碳化學位移(DMSO- d_6)^a

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1	-	-
2	5.50 (dd, 13.2, 3.0)	78.7
3	2.72 (dd, 16.8, 3.0), 3.28–3.31 (m)	42.1
4	-	197.3
4a	-	103.3
5	-	163.0
6	6.07 (d, 2.4)	96.3
7	-	164.9
8	6.10 (d, 2.4)	95.2
8a	-	162.8
1'	-	128.7
2',6'	6.88(dd, 8.5, 2.0)	128.5
3',5'	6.94 (d, 8.5)	115.3
4'	-	157.9
1''	5.09 (d, 7.2)	97.4
2''	3.42–3.46 (m)	76.2
3''	3.14–3.18 (m)	69.6
4''	3.38–3.44 (m)	77.2
5''	3.38–3.44 (m)	76.9
6''	3.40–3.44 (m), 3.62–3.66 (m)	60.5
1'''	5.08 (d, 6.0)	100.4
2'''	3.64–3.68 (m)	70.4*
3'''	3.27–3.32 (m)	70.5*
4'''	3.16–3.20 (m)	71.9
5'''	3.66–3.70 (m)	68.3
6'''	1.14 (d, 6.0)	18.1
5-OH	12.0 (s)	-
4'-OH	9.65 (br s)	-

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

枳殼飲片(CITRI FRUCTUS IMMATURUS)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店枳殼飲片共 10 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Waters 2695 Separation Module，包含 Waters 2996、Photodiode Array Detector；層析管柱 COSMOSIL 5C₁₈ AR-II-C18 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

乙腈(99.9%)購自於 Sigma-Aldrich；甲醇(HPLC grade)購自於 Merck；85% 磷酸購自於 Sigma。

(二) 標準品

柚皮苷(Naringin)來自於中藥司，純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取條件評估

枳殼飲片最佳萃取條件同枳殼藥材。

(二) 最佳萃取時間評估

枳殼飲片最佳萃取時間同枳殼藥材。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取標準品柚皮苷 3.0 mg，加 10 mL 的甲醇製成每 1 mL 含柚皮苷 300 μg 的標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至 60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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 0.2g，置 200 mL 圓底瓶中，準確加入甲醇 100 mL，加熱迴流 1 小時，冷卻後以 No.1 濾紙過濾，取濾液移入 100 mL 容量瓶中，加入甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 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，用標準曲線分別計算溶液中柚皮苷的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取柚皮苷標準品儲備溶液適量(300 $\mu\text{g}/\text{mL}$)，以甲醇稀釋成含柚皮苷分別為 150、100、60、30、15、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 。

(七) 精密度試驗

以柚皮苷為 60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以柚皮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：取同一批市售枳殼飲片粉末，依枳殼飲片檢品溶液製備方法平行製備 5 份枳殼飲片檢品溶液，進樣測定，以柚皮苷的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售枳殼飲片粉末，依枳殼飲片檢品溶液製備方法製備枳殼飲片檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以柚皮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

取已知柚皮苷含量的枳殼飲片粉末 5 份，每份準確稱取約 0.2 g，分別加入 8.0 mg 的柚皮苷，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-C18 Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：UV 283 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(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	20	80
30	20	80

(十二) 臺灣市售枳殼飲片含量測定

取 10 批市售枳殼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 公式計算樣品柚皮苷的百分含量。

(十三) 枳殼飲片檢品之 UPLC 層析條件

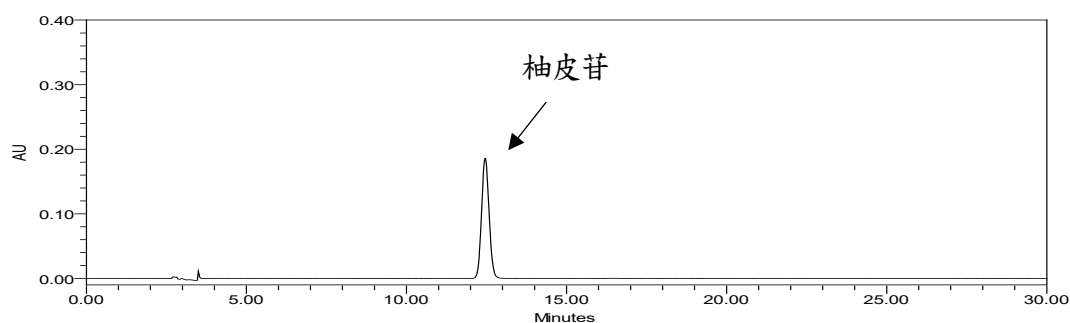
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 283 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	20	80
10	20	80

五、結果

(一) 標準品柚皮苷之 HPLC 層析

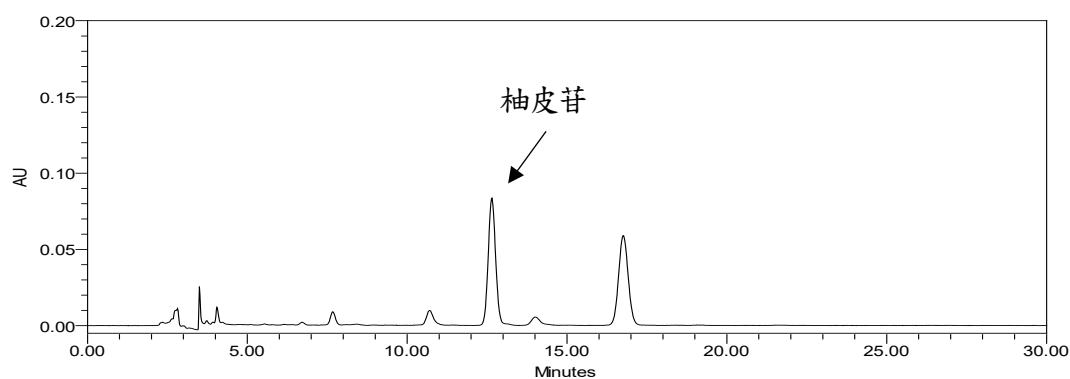
於滯留時間 12.45 分鐘處顯示柚皮苷標準品波峰(圖一)。



圖一、柚皮苷標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售枳殼飲片檢品之 HPLC 層析

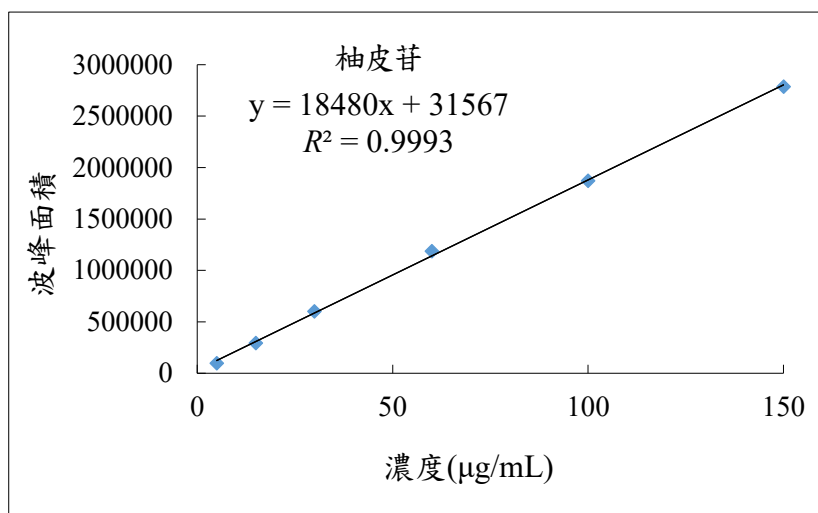
於滯留時間 12.64 分鐘處顯示枳殼檢品中柚皮苷波峰(圖二)。柚皮苷分離率(R)為 4.84，拖尾因子(T)為 1.04，均在系統適用性要求內。



圖二、市售枳殼飲片檢品之 HPLC 層析圖

(三) 標準品柚皮苷檢量線

經不同濃度柚皮苷(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 $y = 18480x + 31567$ ， $R^2 = 0.9993$ ，顯示濃度在 5.0–150 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、柚皮苷之檢量線圖

表一、柚皮苷之檢量線方程式

對照標準品	濃度(µg/mL)	線性回歸方程式	R^2
柚皮苷	5.0–150	$y = 18480x + 31567$	0.9993

(四) 精密度試驗

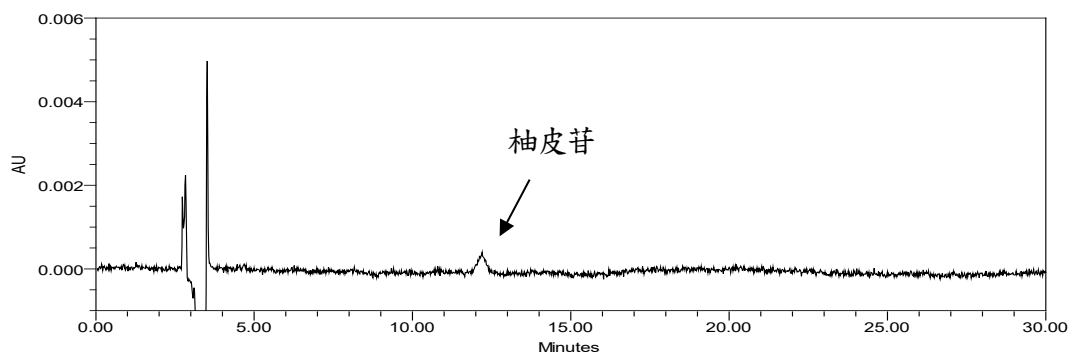
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，柚皮苷精密度之相對標準差為 0.11%，在系統適用性要求內。

(五) 重複性與穩定性試驗

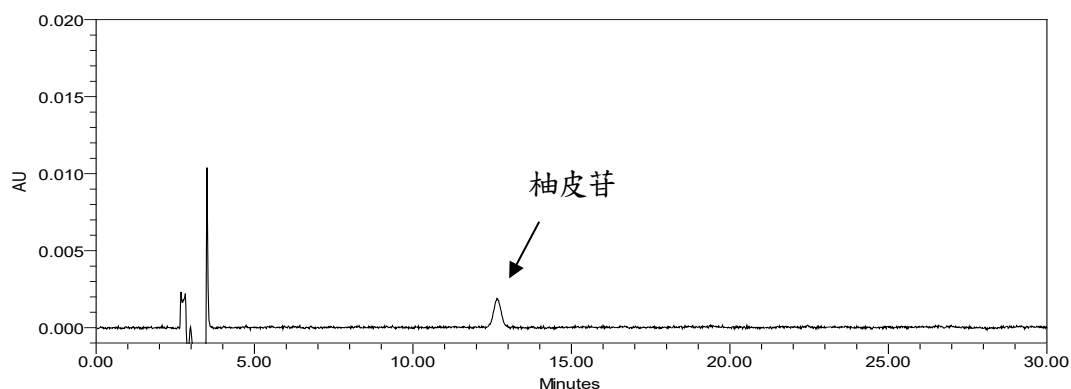
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，柚皮苷重複性之相對標準差為 2.44%，在系統適用性要求內。柚皮苷在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準為 1.89%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(六) 偵測極限與定量極限試驗

柚皮苷偵測極限為 0.3 µg/mL (圖四)，定量極限為 1.0 µg/mL (圖五)。



圖四、柚皮苷之偵測極限層析圖



圖五、柚皮苷之定量極限層析圖

表二、各項檢驗分析

檢測項目	柚皮苷	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	15 µg/mL	0.11
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.6)	2.44
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.6)	1.89
偵測極限 (n=3)	0.3 µg/mL	-
定量極限 (n=3)	1.0 µg/mL	-

(七) 添加回收率試驗

柚皮苷平均添加回收率為 94.2%，相對標準偏差為 2.04%。

表三、柚皮苷添加回收率

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	0.20	7.0351	8.0	14.7275	96.15	94.16	2.04
2	0.20	7.0351	8.0	14.6734	95.48		
3	0.20	7.0351	8.0	14.3897	91.93		
4	0.20	7.0351	8.0	14.6306	94.94		
5	0.20	7.0351	8.0	14.2022	92.29		

(八) 臺灣市售枳殼飲片含量測定

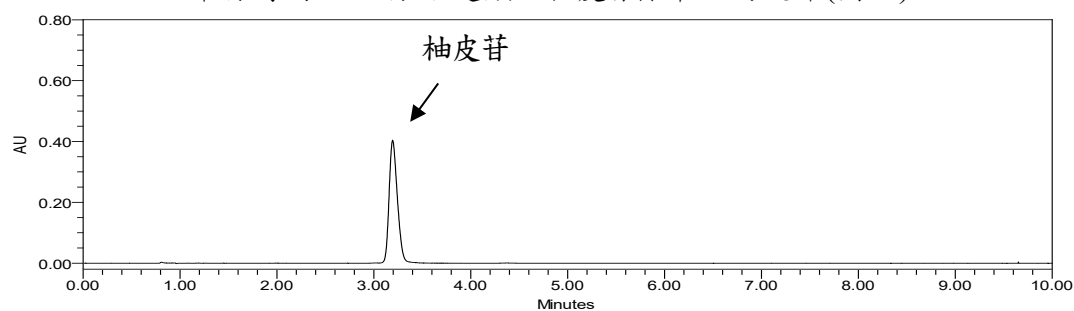
10 批枳殼飲片之含量測定結果(乾燥品)如表四所示，柚皮苷的含量為 3.776–4.835%，建議枳殼飲片指標成分柚皮苷的含量不得少於 2.5%。理論板數按柚皮苷波峰計算應不低於 5000 (實際值為 14255)。

表四、臺灣市售枳殼飲片檢品之柚皮苷的含量

藥材編號(No.)	柚皮苷含量(%)
1 (NC)	3.776
2 (NE)	4.212
3 (NFA)	4.322
4 (NH)	4.835
5 (NJA)	4.835
6 (NRB)	4.064
7 (CF)	4.331
8 (CH)	4.321
9 (SG2-A)	4.182
10 (SU2-E)	4.082
平均值±S.D.	4.296±0.329

(九) 標準品柚皮苷之 UPLC 層析

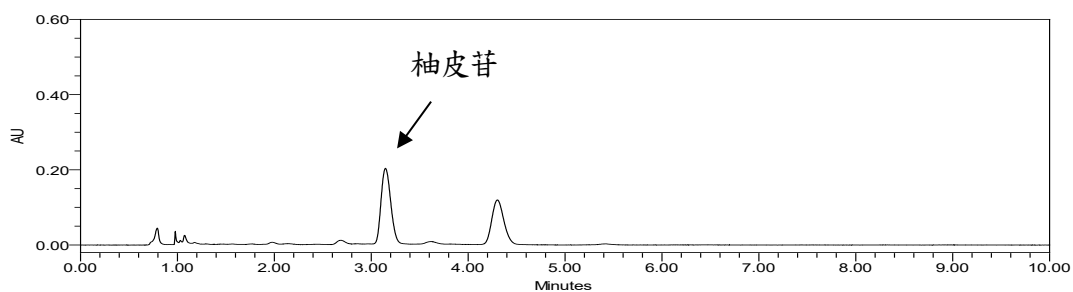
於滯留時間 3.19 分鐘處顯示柚皮苷標準品的波峰(圖六)。



圖六、柚皮苷標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十) 市售枳殼飲片檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 3.14 分鐘處顯示枳殼飲片檢品中柚皮苷的波峰(圖七)。



圖七、市售枳殼飲片檢品之 UPLC 層析圖

枳殼

生藥名：CITRI FRUCTUS IMMATURUS

英文名：Bitter Orange

基 原：本品為芸香科 Rutaceae 植物酸橙 *Citrus aurantium* L. 及其栽培變種之乾燥未成熟果實。

一、方法

- (一) 檢品溶液 **【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》,《中華人民共和國藥典 2020》**
——取本品粉末 0.2 g, 加甲醇 10 mL, 超音波處理 30 分鐘, 過濾, 濾液濃縮至乾, 殘渣加甲醇 5 mL 使之溶解, 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 0.1 g, 加甲醇 100 mL, 超音波處理 30 分鐘, 過濾, 取濾液作為檢品溶液。
【萃取方法 3】(自行開發) ✓
——取本品粉末 0.2 g, 加甲醇 5 mL, 超音波處理 30 分鐘, 過濾, 取濾液作為檢品溶液。
- (二) 對照藥材溶液 取新橙皮苷(Neohesperidin)、柚皮苷(Naringin)對照標準品, 分別加甲醇製成每 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》**
——正丁醇：乙酸：水 (4：1：1)
【展開劑 2】修飾《中華人民共和國藥典 2020》
——二氯甲烷：甲醇：水 (13：6：2)
【展開劑 3】《香港中藥材標準第四冊》
——丙酮：水 (2：3)
【展開劑 4】(自行開發) ✓
——乙酸乙酯：甲醇：水 (100：17：13)
- (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 5%三氯化鋁試液(AlCl₃/EtOH TS)噴霧, 風乾後, 置於紫外光(365 nm)下檢視。

二、萃法選擇及濃度測試

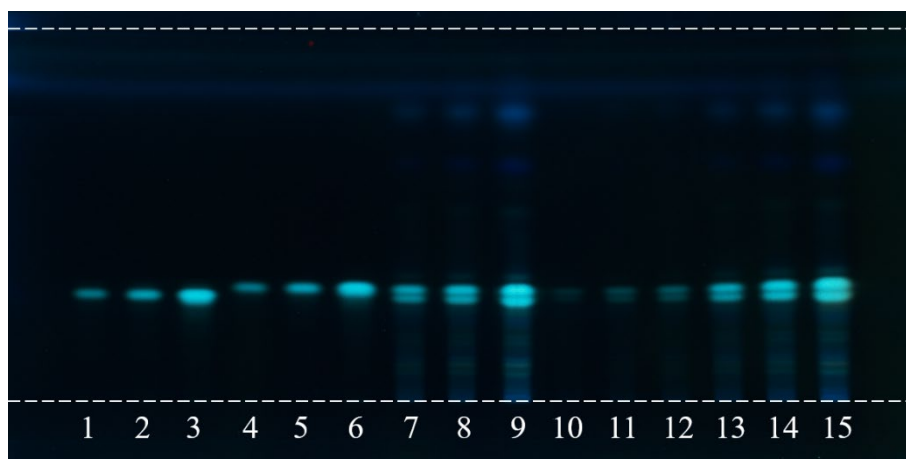
實驗日期：110/08/09

相對溼度(RH)：65%

溫度(RT)：23.8 °C

【展開劑 4】(自行開發)——乙酸乙酯：甲醇：水 (100：17：13)

—HPTLC 5%三氯化鋁試液顯色後紫外光(365 nm)檢出



編號	名稱	點注量
1, 2, 3	新橙皮苷(1.0 mg/mL)	1, 2, 5 μ L
4, 5, 6	柚皮苷(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】	2, 5, 8 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新橙皮苷及柚皮苷，因方法簡便，濃度適中，故採用【萃取方法 3】。

建議點注量：新橙皮苷 2 μ L，柚皮苷 2 μ L，檢品溶液【萃取方法 3】2 μ L。

三、溶媒系統選擇

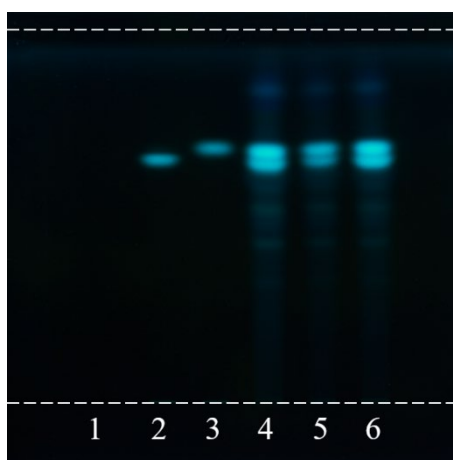
實驗日期：110/08/09

相對溼度(RH)：65%

溫度(RT)：23.8 °C

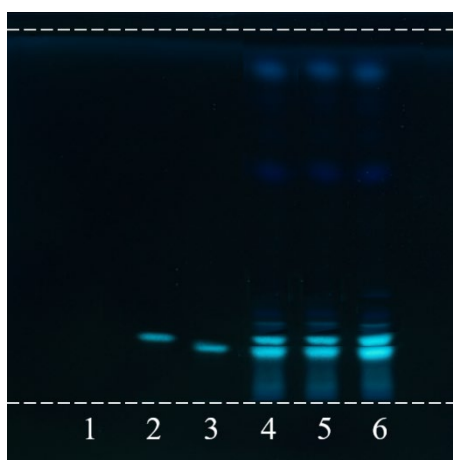
【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——正丁醇：乙酸：水 (4：1：1)

【萃取方法 3】(自行開發)——HPTLC 5%三氯化鋁試液顯色後紫外光(365 nm)
檢出(新橙皮苷 R_f 值為 0.66，柚皮苷 R_f 值為 0.67)



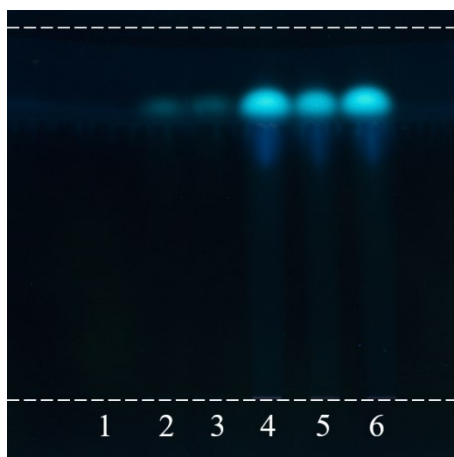
【展開劑 2】修飾《中華人民共和國藥典 2020》——二氯甲烷：甲醇：水 (13：6：2)

【萃取方法 3】(自行開發)——HPTLC 5%三氯化鋁試液顯色後紫外光(365 nm)
檢出(新橙皮苷 R_f 值為 0.14，柚皮苷 R_f 值為 0.11)



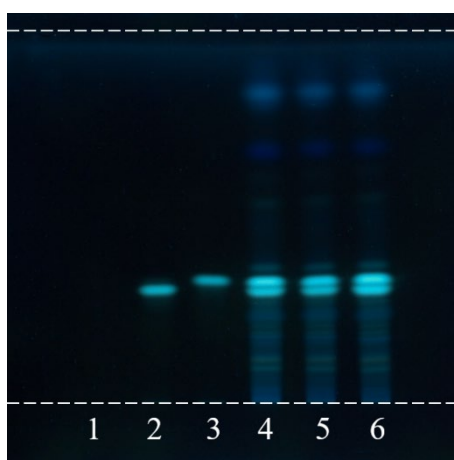
【展開劑 3】《香港中藥材標準第四冊》——丙酮：水 (2：3)

【萃取方法 3】(自行開發)—HPTLC 5%三氯化鋁試液顯色後紫外光(365 nm)檢出(新橙皮苷 R_f 值為 0.80，柚皮苷 R_f 值為 0.81)



【展開劑 4】(自行開發)—乙酸乙酯：甲醇：水 (100：17：13)✓

【萃取方法 3】(自行開發)—HPTLC 5%三氯化鋁試液顯色後紫外光(365 nm)檢出(新橙皮苷 R_f 值為 0.31，柚皮苷 R_f 值為 0.33)



1：Blank

2：新橙皮苷

3：柚皮苷

4，5：檢品溶液 10

6：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 3】方式，以自行開發之【展開劑 4】展開，新橙皮苷及柚皮苷之 R_f 值適中，分離較佳，且沒有使用含氯溶媒，故採用自行開發之【展開劑 4】。

四、觀察方式選擇

實驗日期：110/08/09

相對溼度(RH)：65%

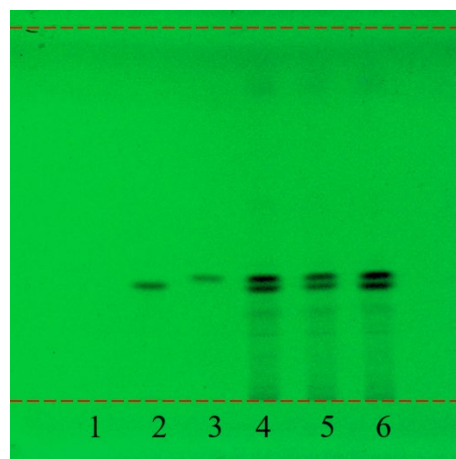
溫度(RT)：23.8 °C

【展開劑 4】(自行開發)——乙酸乙酯：甲醇：水 (100：17：13)

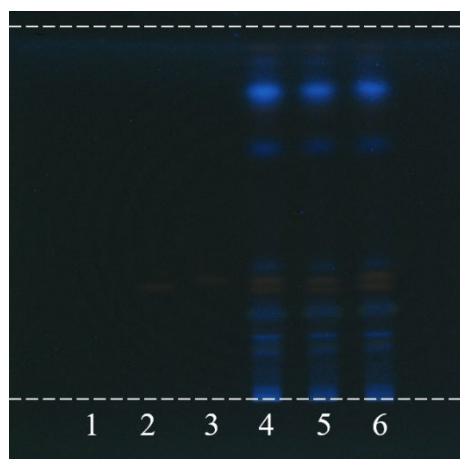
【萃取方法 3】(自行開發)－HPTLC 可見光檢出



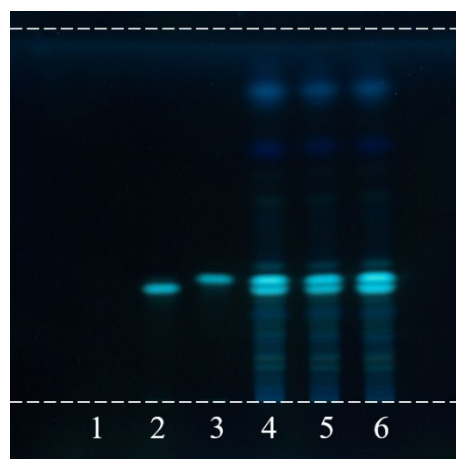
【萃取方法 3】(自行開發)－HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



【萃取方法 3】(自行開發)－HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



【萃取方法 3】(自行開發)－HPTLC 5%三氯化鋁試液顯色後紫外光(365 nm)檢出✓



1：Blank

4，5：檢品溶液 10

2：新橙皮苷

6：Spike

3：柚皮苷

建議觀察方式：5%三氯化鋁試液顯色後於紫外光(365 nm)，有較明顯分離之條帶。

五、十批枳殼藥材樣品檢測

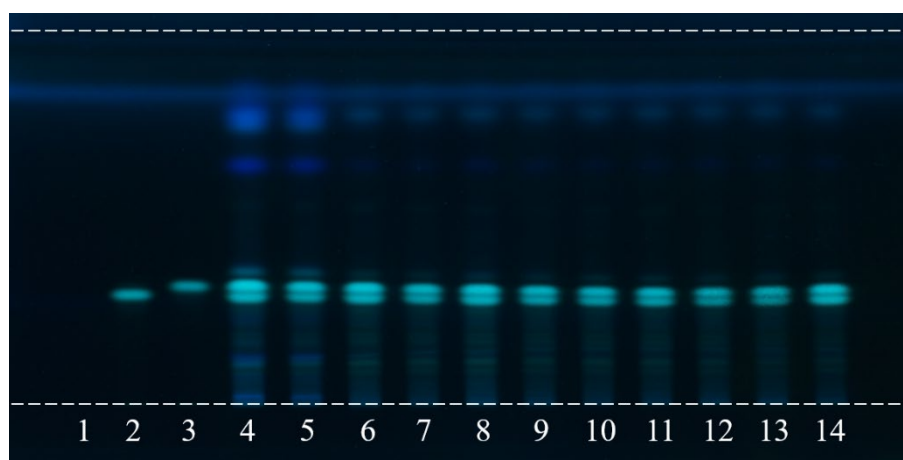
實驗日期：110/08/09

相對溼度(RH)：65%

溫度(RT)：23.8 °C

【展開劑 4】(自行開發)——乙酸乙酯：甲醇：水 (100：17：13)

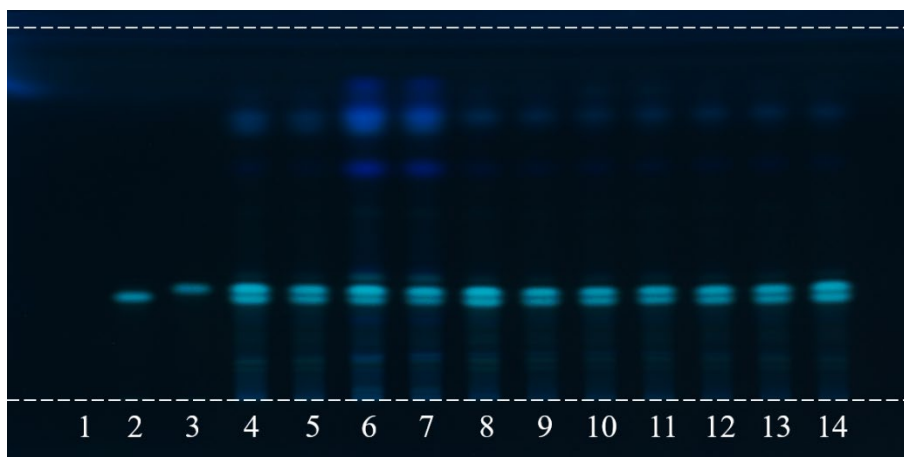
【萃取方法 3】(自行開發)——HPTLC 5%三氯化鋁試液顯色紫外光(365 nm)檢出



1	Blank
2	新橙皮苷(1.0 mg/mL)
3	柚皮苷(1.0 mg/mL)
4，5	檢品溶液 1 (ND)
6，7	檢品溶液 2 (NP)
8，9	檢品溶液 3 (NR1)
10，11	檢品溶液 4 (NZ)
12，13	檢品溶液 5 (CA)
14	Spike (檢品溶液 10)

【展開劑 4】(自行開發)——乙酸乙酯：甲醇：水 (100：17：13)

【萃取方法 3】(自行開發)——HPTLC 5%三氯化鋁試液顯色紫外光(365 nm)檢出



1	Blank
2	新橙皮苷(1.0 mg/mL)
3	柚皮苷(1.0 mg/mL)
4，5	檢品溶液 6 (CB)
6，7	檢品溶液 7 (SA2)
8，9	檢品溶液 8 (SB)
10，11	檢品溶液 9 (SC2)
12，13	檢品溶液 10 (SU2D)
14	Spike (檢品溶液 10)

結論與建議：以自行開發之【萃取方法 3】方式，及自行開發之【展開劑 4】分離與檢出新橙皮苷與柚皮苷較佳，以 5%三氯化鋁試液顯色後於紫外光(365 nm)下檢視較佳。

枳殼(飲片)

六、十批枳殼飲片樣品檢測

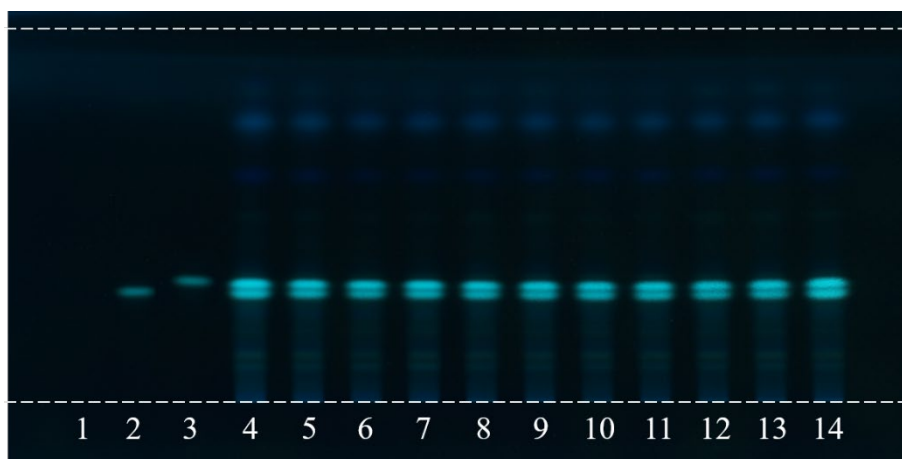
實驗日期：110/08/09

相對溼度(RH)：65%

溫度(RT)：23.8 °C

【展開劑 4】(自行開發)——乙酸乙酯：甲醇：水 (100：17：13)

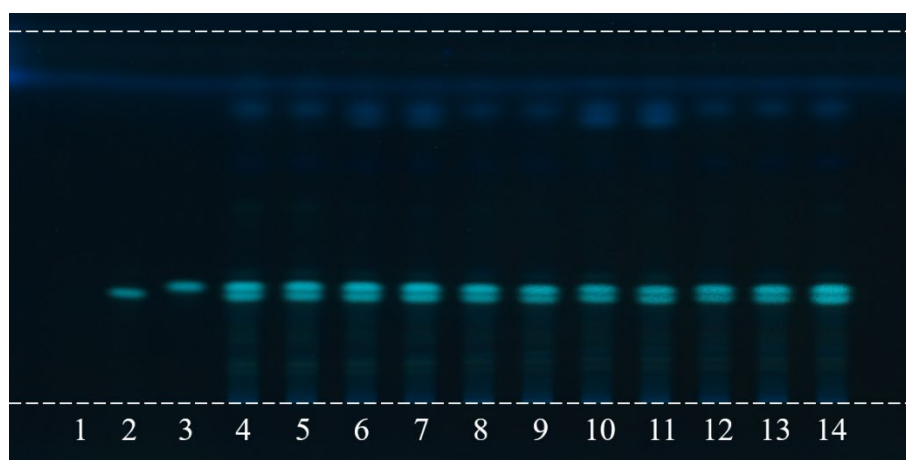
【萃取方法 3】(自行開發)——HPTLC 5%三氯化鋁試液顯色紫外光(365 nm)檢出



1	Blank
2	新橙皮苷(1.0 mg/mL)
3	柚皮苷(1.0 mg/mL)
4, 5	檢品溶液 1 (NC)
6, 7	檢品溶液 2 (NE)
8, 9	檢品溶液 3 (NFA)
10, 11	檢品溶液 4 (NH)
12, 13	檢品溶液 5 (NJA)
14	Spike (檢品溶液 3)

【展開劑 4】(自行開發)——乙酸乙酯：甲醇：水 (100：17：13)

【萃取方法 3】(自行開發)——HPTLC 5%三氯化鋁試液顯色紫外光(365 nm)檢出



1	Blank
2	新橙皮苷(1.0 mg/mL)
3	柚皮苷(1.0 mg/mL)
4, 5	檢品溶液 6 (NRB)
6, 7	檢品溶液 7 (CF)
8, 9	檢品溶液 8 (CH)
10, 11	檢品溶液 9 (SG2A)
12, 13	檢品溶液 10 (SU2E)
14	Spike (檢品溶液 3)

結論與建議：飲片鑑別同藥材。