

枳實

(AURANTII FRUCTUS IMMATURUS)

枳實 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
枳實 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
枳實 TLC	24
一、方法.....	24
二、萃法選擇及濃度測試.....	25
三、溶媒系統選擇.....	26
四、觀察方式選擇.....	27
五、十批枳實藥材樣品檢測.....	28

枳實 MI

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甜橙及酸橙的乾燥果實。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：枳實

生藥名：AURANTII FRUCTUS IMMATURUS

英文名：Immature Bitter Orange

基原：本品為芸香科 Rutaceae 植物酸橙 *Citrus aurantium* L. 及其栽培變種或甜橙 *Citrus sinensis* (L.) Osbeck 之乾燥幼果。

採收加工：5~6 月拾取自然掉落在地上的幼小果實，揀去雜質，再以清水洗淨，曬乾；略大者悶潤至透，自中部橫切為兩半或切片，曬乾。

藥材性狀：(酸橙) 本品呈半球形或片狀，少數為球形，直徑 0.5~2.5 cm。外果皮黑綠色或暗棕綠色，表皮粗糙，顆粒狀突起明顯，並有明顯的花柱殘跡或果梗痕。切面中果皮略隆起，黃白色或黃褐色，較甜橙厚，約占半徑 1/2~2/3，邊緣有 1~2 層油室，瓢囊棕褐色。質堅硬。氣清香，味苦、微酸。

(甜橙) 本品呈半球形或片狀，少數為球形，直徑 0.5~2.5 cm。外果皮黑綠色或暗棕綠色，具微小顆粒狀突起和皺紋，有明顯的花柱殘跡或果梗痕。切面中果皮略隆起，黃白色或黃褐色，厚 0.3~1.2 cm，約占半徑 1/3，邊緣有 1~2 層油室，瓢囊棕褐色。質堅硬。氣清香，味苦、微酸。

生長分佈：常綠小喬木。喜溫暖潮濕之氣候，適合生長於陽光充足、雨量充沛且排水良好的疏鬆砂質土壤，栽培於丘陵、低山地帶和江河湖泊沿岸。花期 4 月，果實成熟期 11~12 月。酸橙主產於湖南、重慶、江西；甜橙主產於廣東、廣西、四川及貴州；其餘地區如江蘇、浙江、福建等地區和台灣亦有栽培。

三、藥材組織顯微鑑別 (圖 2)

酸橙：

1. 外果皮之表皮細胞 1 列，外被厚角質層。
2. 油室 1~2 列，類圓形至長橢圓形，不規則地排列在外果皮，直徑 50~850 μm 。
3. 中果皮橫切面為薄壁細胞數列，細胞壁不均勻增厚。
4. 維管束小，可見導管散佈在中果皮間。
5. 內果皮為 1 列薄壁細胞，切向排列緊密。

6. 可見多數草酸鈣方晶多，大多散於近表皮及內果皮的薄壁細胞中。

甜橙：

1. 外果皮之表皮細胞 1 列，外被厚角質層。
2. 油室 1~2 列，類圓形至長橢圓形，不規則地排列在外果皮，直徑 50~800 μm 。
3. 中果皮橫切面為薄壁細胞數列，細胞壁不均勻增厚，可見大量橙皮苷結晶，為扇形或不規則形。
4. 維管束小，可見導管散佈在中果皮間。
5. 內果皮為 1 列薄壁細胞，切向排列緊密。

四、藥材粉末顯微鑑別 (圖 3)

酸橙：

1. 本品粉末黃白色。
2. 外果皮細胞表面觀多角形至類方形，偶見氣孔。
3. 中果皮碎片多，其中薄壁細胞圓形或形狀不規則，細胞壁大多呈不均勻增厚。
4. 可見螺紋導管，直徑約 5~15 μm 。
5. 草酸鈣方晶多，呈稜形、雙錐形或多面體，直徑約 8~20 μm ，在偏光顯微鏡下為亮白色或多彩色。
6. 油室碎片有時呈棕黃色，常破碎，有時可見油滴。

甜橙：

1. 本品粉末黃白色。
2. 外果皮細胞表面觀多角形至類方形，偶見氣孔。
3. 中果皮碎片多，其中薄壁細胞圓形或形狀不規則，細胞壁大多呈不均勻增厚，其中常可見成團的橙皮苷結晶。
4. 橙皮苷結晶多扇形或不規則形，直徑約 20~60 μm ，偏光顯微鏡下為亮白色或多彩色。
5. 可見螺紋導管，直徑約 5~20 μm 。
6. 近外果皮和汁囊中可見草酸鈣方晶，呈稜形、雙錐形或多面體，直徑約 8~20 μm ，在偏光顯微鏡下為亮白色或多彩色。
7. 油室碎片有時呈棕黃色，常破碎，有時可見油滴。
8. 汁囊表皮細胞狹長，壁甚薄，微波狀彎曲，或細胞皺縮成線形，其下薄壁組織散有多數草酸鈣方晶和扇貝樣結晶。



圖 1A 酸橙藥材圖



圖 1B 甜橙藥材圖

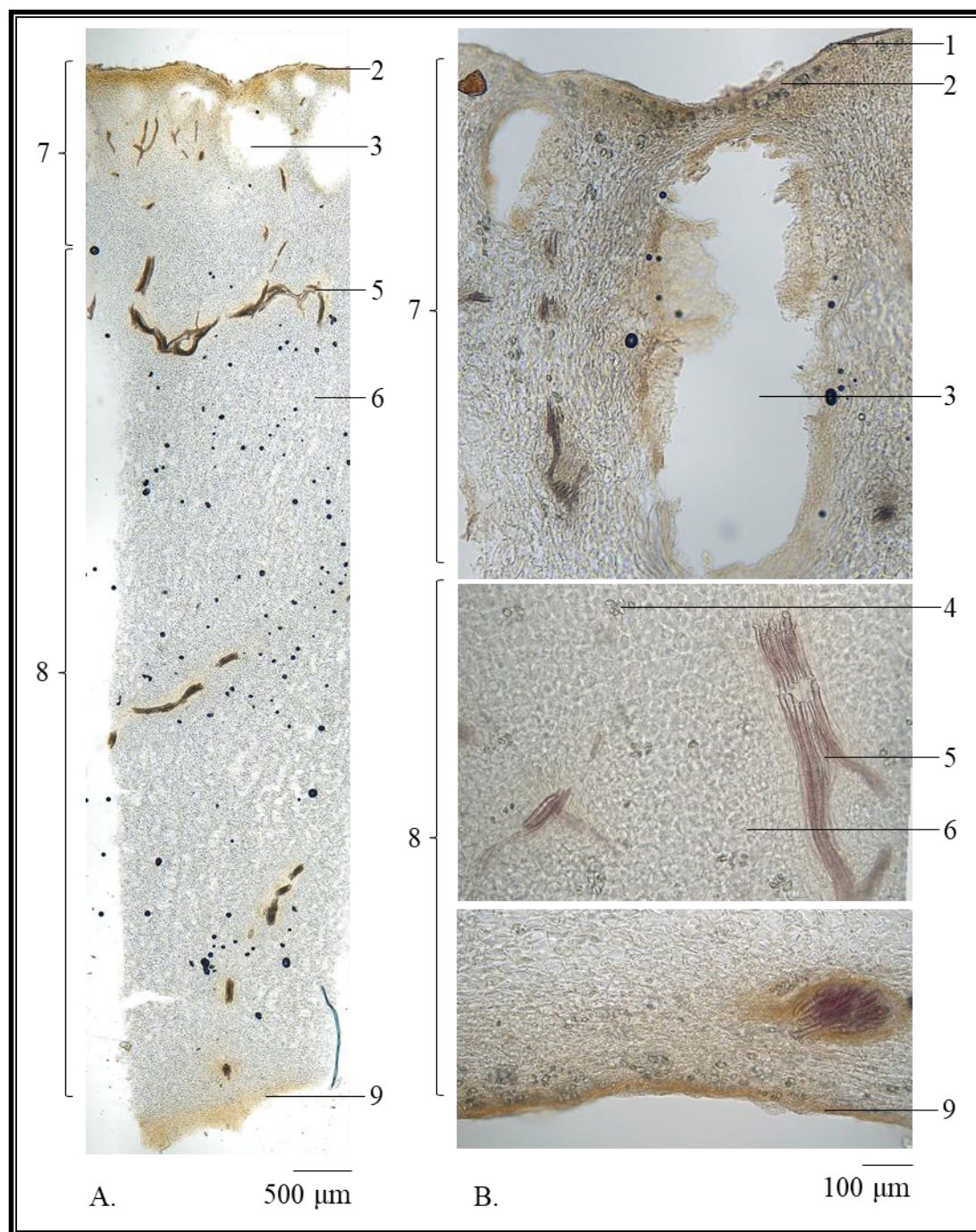


圖 2A 酸橙橫切面顯微特徵圖

A.橫切面圖 B.橫切面放大圖

- 1.角質層 2.表皮 3.油室 4.草酸鈣方晶 5.導管 6.薄壁細胞 7.外果皮
8.中果皮 9.內果皮

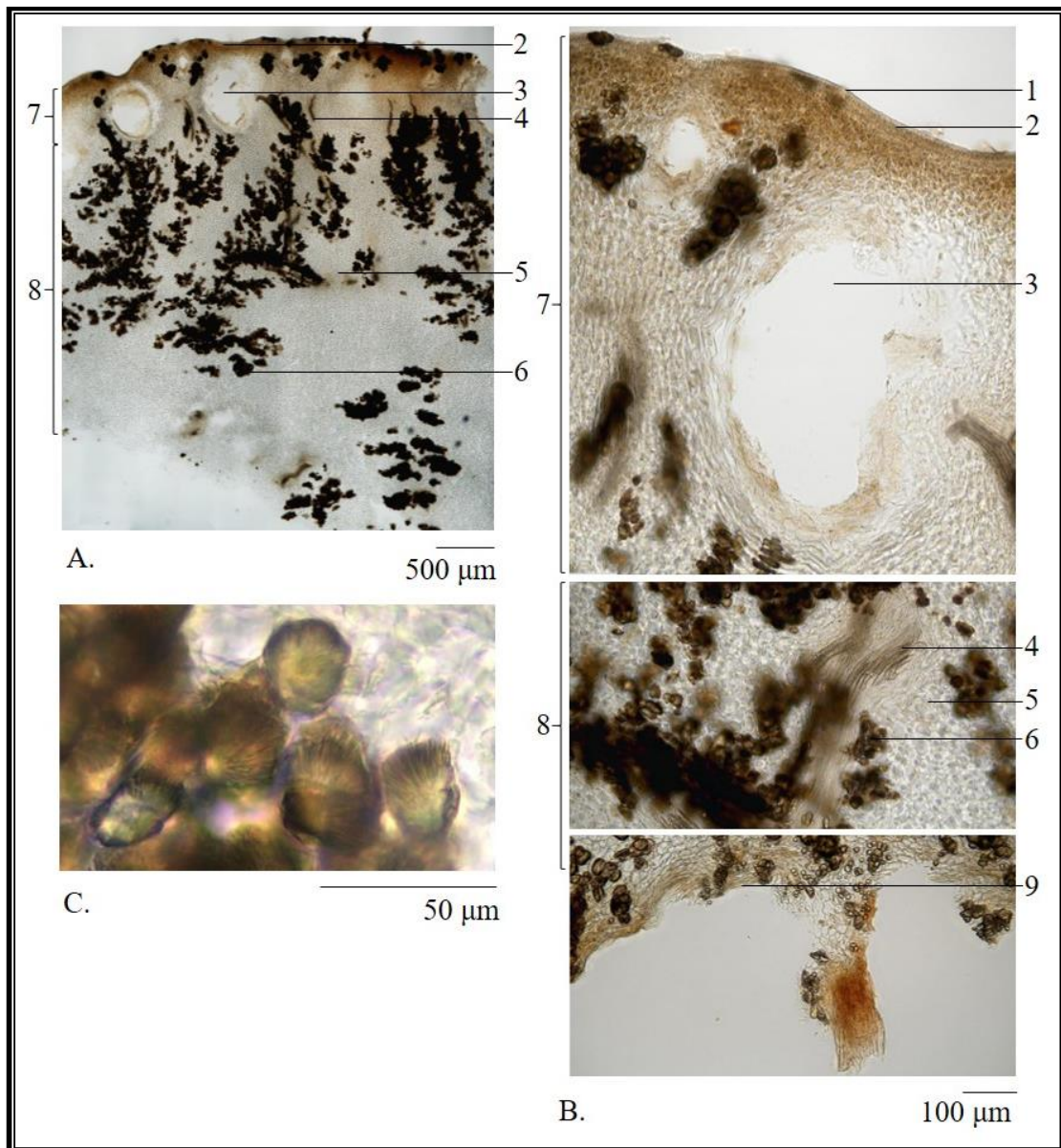


圖 2B 甜橙橫切面顯微特徵圖

A.橫切面圖 B.橫切面放大圖 C.扇形樣橙皮苷結晶

1.角質層 2.表皮 3.油室 4.導管 5.薄壁細胞 6. 橙皮苷結晶

7.外果皮 8.中果皮 9.內果皮

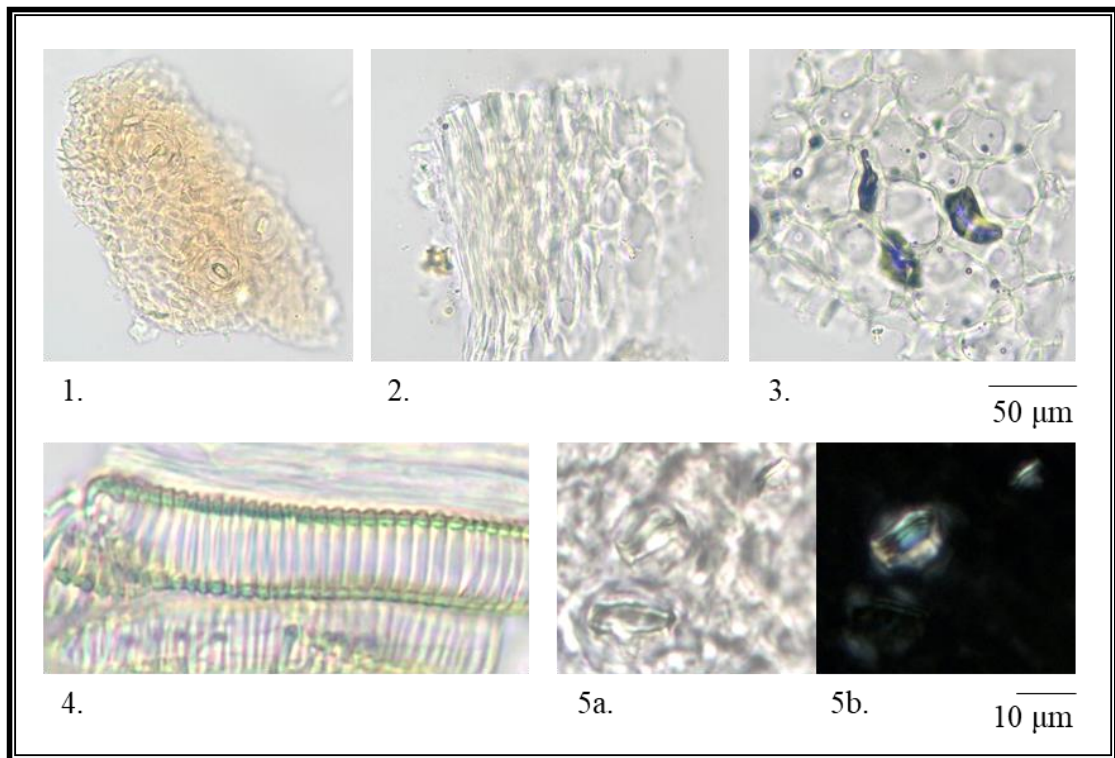


圖 3A 酸橙粉末顯微特徵圖

a. 光學顯微鏡下特徵 b. 偏光顯微鏡下特徵

1. 表皮細胞及氣孔 2. 油室碎片 3. 中果皮細胞 4. 螺紋導管 5. 草酸鈣方晶

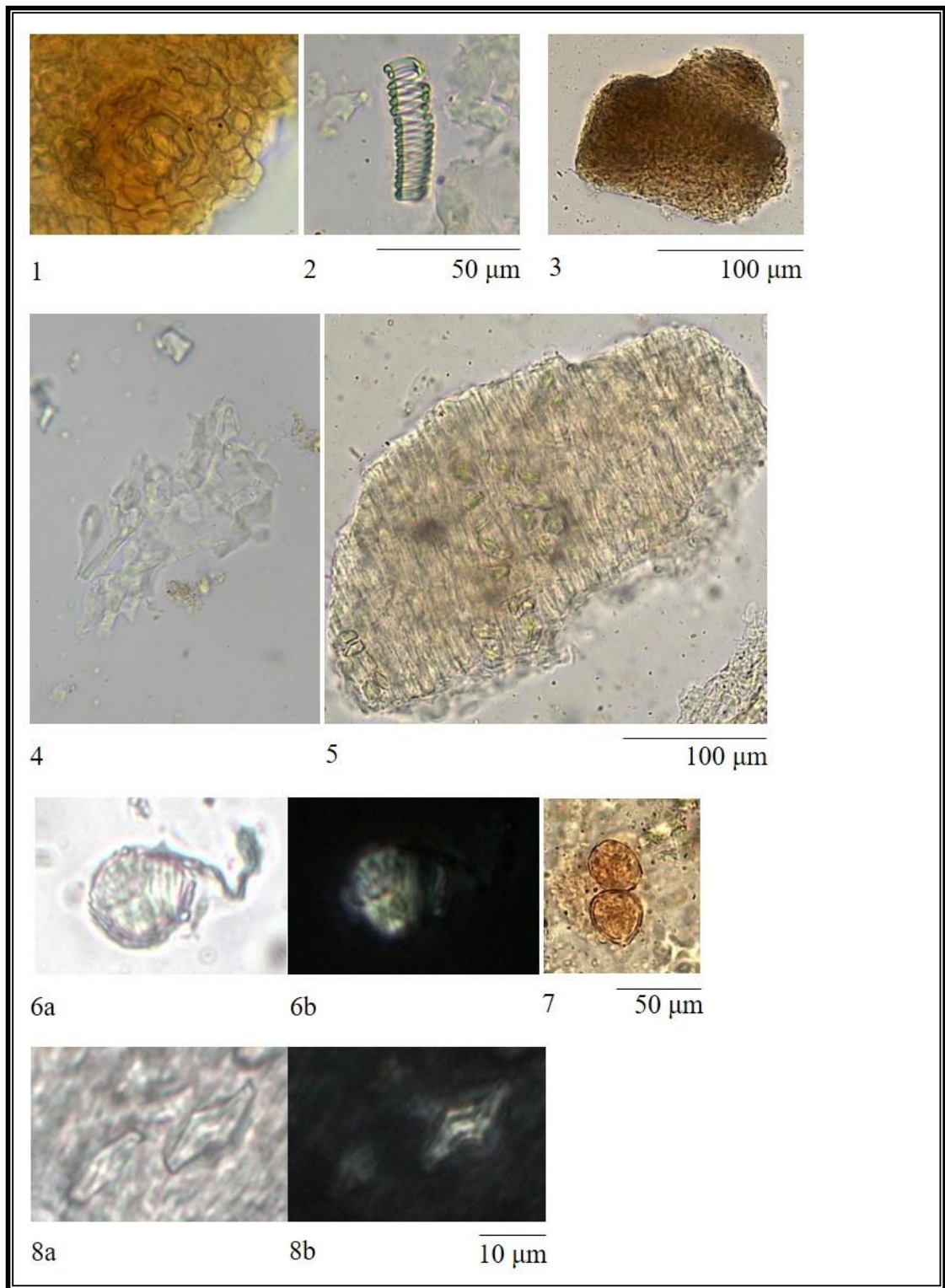


圖 3B 甜橙粉末顯微特徵圖

a. 光學顯微鏡下特徵 b. 偏光顯微鏡下特徵

1. 表皮細胞及氣孔 2. 螺紋導管 3. 油室碎片 4. 中果皮細胞

5. 汁囊及草酸鈣方晶 6. 橙皮苷扇貝樣結晶 7. 油滴 8. 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(2021)。臺灣中藥典第四版。台北市：衛生福利部。205~208 頁。
2. 張賢哲、蔡貴花(2003)。中藥炮製學。昱盛印刷事業有限公司。422~424 頁。
3. 葉炎璋(2013)。中國藥學暨中藥資源學系碩士論文-枳實與其混淆藥材之鑑別及品質評估。69~72 頁。
4. 中藥栽培法編輯委員(1978)。中藥栽培法。啟業書局有限公司。283 頁。
5. 肖培根(主編)(2002)。新編中藥志第二卷。北京：化學工業出版社。453~463 頁。
6. 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。502~548 頁。
7. 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。
8. 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。368~369 頁。
9. 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(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。58~70 頁。

枳實 HPLC

一、材料

購自於臺灣各地中藥店枳實藥材共 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 2998、Photodiode Array Detector；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

甲醇(HPLC grade)、乙腈(HPLC grade)、乙醇(95%)皆購自於永定科技有限公司；磷酸(≥85%)購自於 Merck；十二烷基硫酸鈉(Sodium dodecyl sulfate, SDS)購自於 Merck。

(二) 標準品

標準品辛弗林(Synephrine)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 6 份，每份準確稱取 0.5 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 25 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，離心 10 分鐘(約 4000 × g)，以 No.1 濾紙過濾，取濾液移入 25 mL 之容量瓶中，加溶媒至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 μm)，即得。每針 10 μL 注入 HPLC，以所測得每克重量之標準品辛弗林最大波峰面積為最佳枳實藥材萃取溶媒。

(二) 最佳萃取次數評估

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 0.5 g，置 50 mL 離心管中，準確加入 50%甲醇 25 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，離心 10 分鐘(約 4000 × g)，以 No.1 濾紙過濾，取濾液移入 25 mL 之容量瓶中，加 50%甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 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

準確稱取標準品辛弗林 3.0 mg，加 10 mL 的 50% 甲醇製成每 1 mL 含辛弗林 300 μg 的標準品儲備溶液，並以 50% 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 0.5 g，置 50 mL 離心管中，加入 50% 甲醇 25 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，離心 10 分鐘(約 $4000 \times g$)，以 No.1 濾紙過濾，取濾液。殘渣部分重複提取 1 次，合併濾液，移入至 50 mL 之容量瓶中，加 50% 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，用標準曲線計算溶液中辛弗林的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取辛弗林標準品儲備液適量(300 $\mu\text{g}/\text{mL}$)，以 50% 甲醇稀釋成含辛弗林分別為 150、75、60、30、15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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

以辛弗林為 60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以辛弗林的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性：取同一批市售枳實藥材粉末，依枳實藥材檢品溶液製備方法平行製備 5 份枳實藥材檢品溶液，進樣測定，以辛弗林的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售枳實藥材粉末，依枳實藥材檢品溶液製備方法製備枳實藥材檢品溶液，分別在 0、2、4、8、24 小時進樣測定，以辛弗林的含量為指標，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

取已知辛弗林含量的枳實藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 0.5 g，分別加入辛弗林 2.0 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 224 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)	甲醇(%)	0.1%磷酸和 0.1%十二烷基硫酸鈉(%, v/v)*
0	55	45
30	55	45

*取 1 mL 磷酸及 1 g 十二烷基硫酸鈉加水至 1000 mL 的混合液(pH 值約 2.39)。

(十二) 臺灣市售枳實藥材含量測定

取 10 批市售枳實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 公式計算樣品辛弗林的百分比含量。

(十三) 枳實檢品之 UPLC 分析條件

1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μ m)
2. 檢測波長：UV 224 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μ L
6. 移動相：

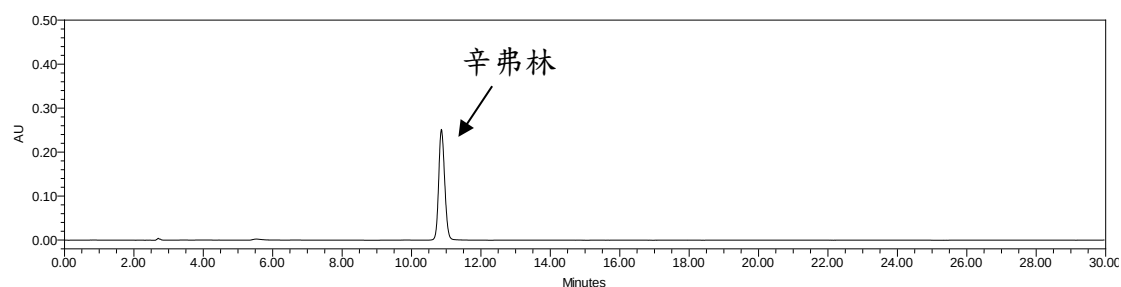
時間(min)	甲醇(%)	0.1%磷酸和 0.1%十二烷基硫酸鈉(%, v/v)*
0	55	45
10	55	45

*取 1 mL 磷酸及 1 g 十二烷基硫酸鈉加水至 1000 mL 的混合液(pH 值約 2.39)。

五、結果

(一) 標準品辛弗林之 HPLC 層析

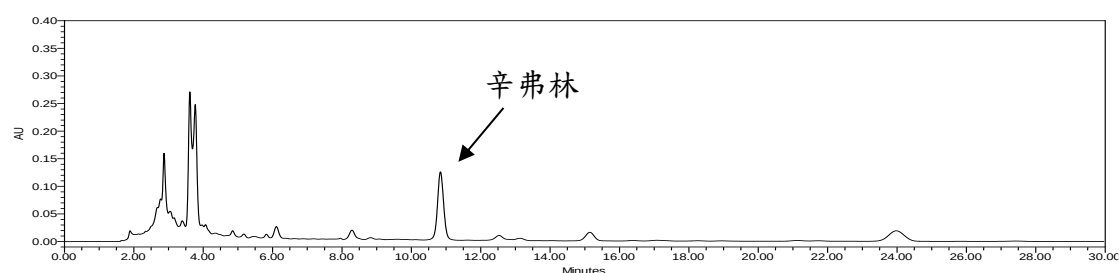
於滯留時間 10.8 分鐘處顯示辛弗林標準品波峰(圖一)。



圖一、辛弗林標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售枳實藥材檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 10.8 分鐘處顯示枳實藥材檢品中辛弗林波峰(圖二)。辛弗林分離率(R)為 3.11，拖尾因子(T)為 1.05，均在系統適用性要求內。



圖二、市售枳實藥材檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳萃取溶媒評估

以 50% 甲醇溶液為溶媒時，每克藥材重量所得辛弗林的波峰面積最大，顯示 50% 甲醇溶液為最佳萃取溶媒。

表一、不同萃取溶媒評估

溶媒	辛弗林波峰面積	最佳萃取
甲醇	3497079	
75% 甲醇	3006131	
50% 甲醇	4583435	√
乙醇	1991075	
75% 乙醇	4019282	
50% 乙醇	4334005	

(四) 最佳萃取次數評估

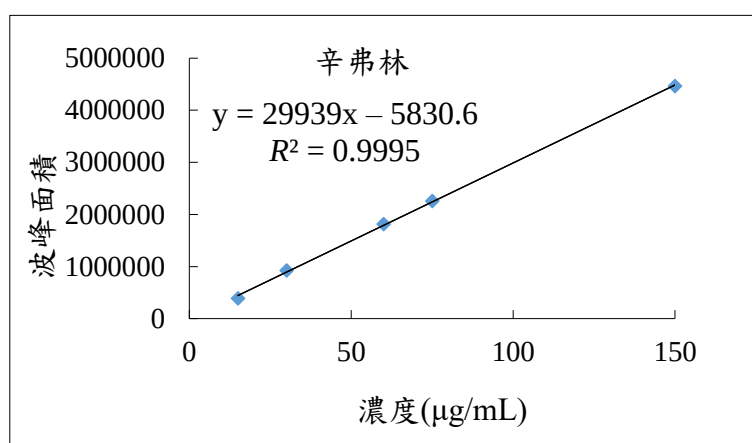
結果顯示萃取 2 次基本上已將辛弗林萃取完全(萃取率大於 98%)。

表二、枳實藥材檢品萃取次數評估

50% 甲醇萃取次數	辛弗林波峰面積
第 1 次	4195034
第 2 次	915168
第 3 次	85077
第 4 次	18035
第 5 次	N.D.

(五) 標準品辛弗林檢量線

經不同濃度辛弗林(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 $y = 29939x - 5830.6$ ， $R^2 = 0.9995$ ，顯示濃度在 15–150 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、辛弗林之檢量線圖

表三、辛弗林之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
辛弗林	15–150	$y = 29939x - 5830.6$	0.9995

(六) 精密度試驗

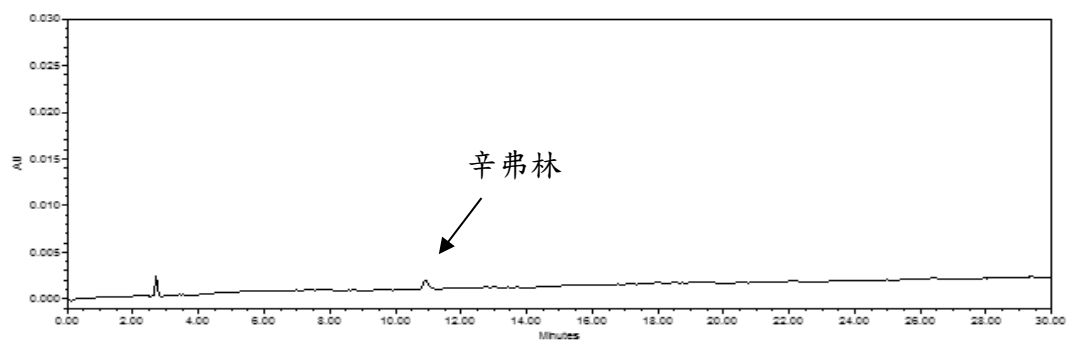
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，辛弗林精密度之相對標準差為 0.03%，在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

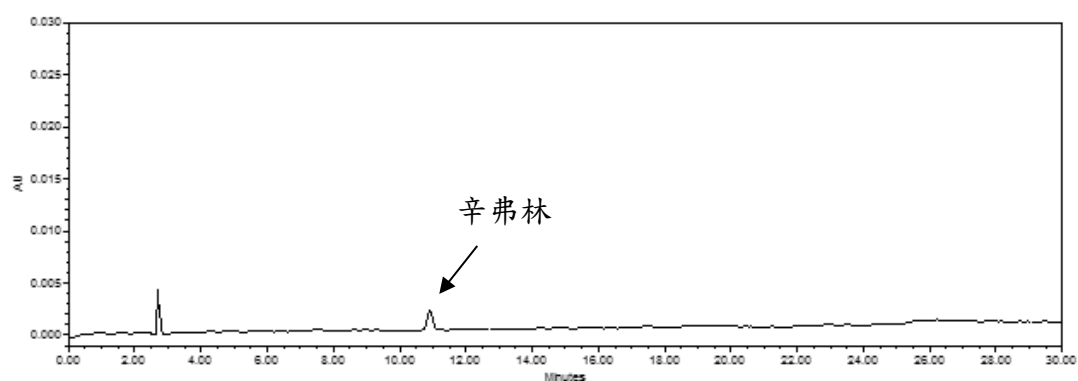
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，辛弗林重複性之相對標準差為 1.93%，在系統適用性要求內。辛弗林在 24 小時內穩定，穩定性相對標準差為 0.13%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

辛弗林偵測極限為 0.1 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 0.3 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、辛弗林之偵測極限層析圖



圖五、辛弗林之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	辛弗林	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	60 $\mu\text{g/mL}$	0.03
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.5)	1.93
穩定性 (n=5)	檢品溶液(No.5)	0.13
偵測極限 (n=1)	0.1 $\mu\text{g/mL}$	-
定量極限 (n=1)	0.3 $\mu\text{g/mL}$	-

(九) 添加回收率試驗

辛弗林平均添加回收率為 93.9%，相對標準偏差為 2.41% (表五)。

表五、辛弗林添加回收率

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	0.5011	2.707	2.0	4.634	96.37	93.91	2.41
2	0.5004	2.703	2.0	4.543	92.02		
3	0.5006	2.704	2.0	4.591	94.34		
4	0.5001	2.702	2.0	4.532	91.49		
5	0.5011	2.707	2.0	4.614	95.35		

(十) 臺灣市售枳實藥材含量測定

10 批枳實藥材之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，辛弗林的含量為 0.113–0.883%。建議枳實藥材指標成分辛弗林的含量不得少於 0.3%。理論板數按辛弗林波峰計算應不低於 8000 (實際值為 18548)。

表六、臺灣市售枳實藥材檢品之辛弗林的含量

藥材編號 (No.)	辛弗林含量 (%)	藥材編號 (No.)	辛弗林含量 (%)
1 (NF)	0.873	6 (SA)	0.468
2 (NO-1)	0.177	7 (SUA)	0.199
3 (NO-2)	0.113	8 (SUD)	0.883
4 (CA)	0.617	9 (SU2-B)	0.524
5 (CE)	0.510	10 (SU2-D)	0.838
平均值±S.D.	0.520±0.290		

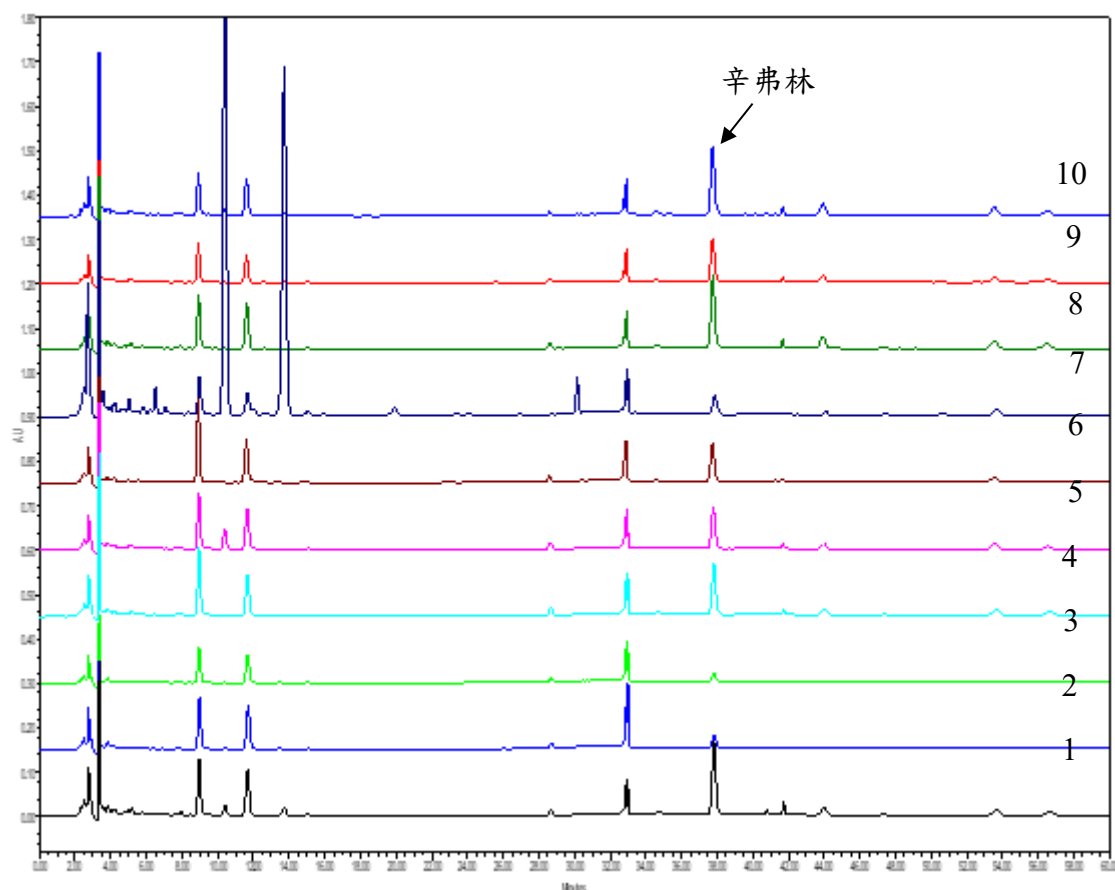
(十一) 枳實藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售枳實檢品溶液各 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 224 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%磷酸和 0.1%十二烷基硫酸鈉(%, v/v)*
0	20	80
15	20	80
25	25	75
30	33	67
60	35	65

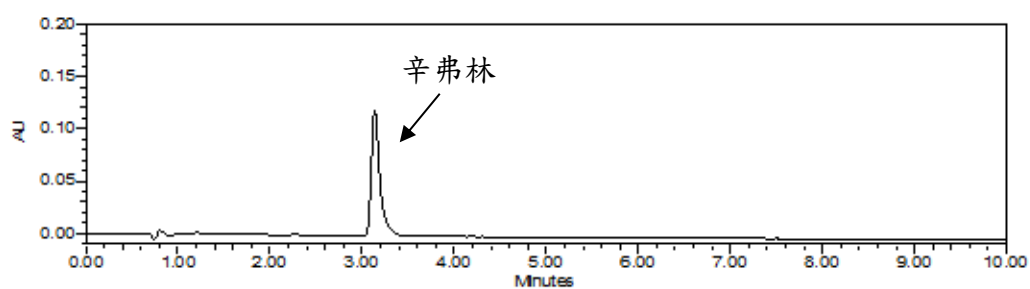
*取 1 mL 磷酸及 1 g 十二烷基硫酸鈉加水至 1000 mL 的混合液(pH 值約 2.39)。



圖六、10 批枳實藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 標準品辛弗林之 UPLC 層析

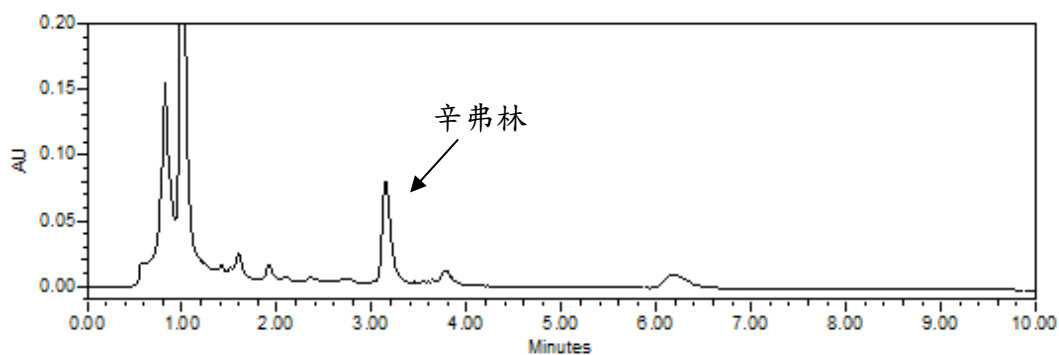
於滯留時間 3.13 分鐘處顯示辛弗林標準品波峰(圖七)。



圖七、辛弗林標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售枳實藥材檢品之 UPLC 層析

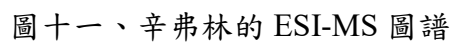
於滯留時間 3.15 分鐘處顯示枳實藥材檢品中辛弗林波峰(圖八)。



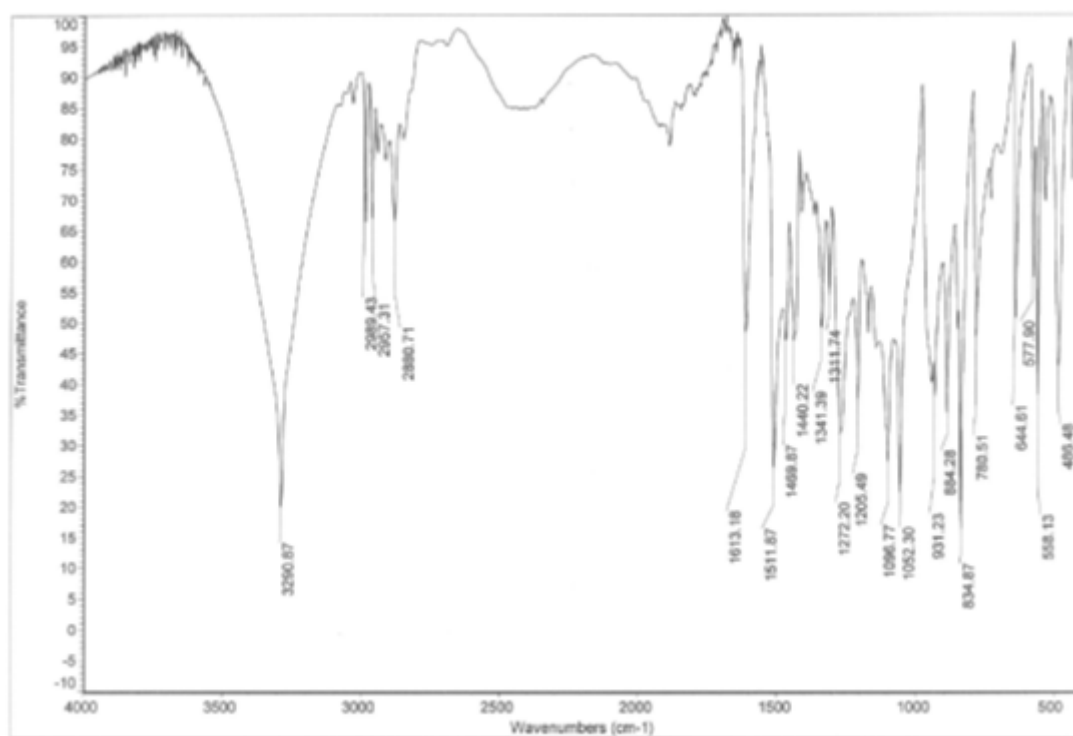
圖八、市售枳實藥材檢品之 UPLC 層析圖

Mass spectrum plot showing relative intensity versus m/z. The x-axis is labeled 'm/z' and ranges from 0 to 160. The y-axis represents relative intensity. The base peak is at m/z 55. Other significant peaks are labeled with their m/z values: 159.100, 139.114, 133.123, 114.209, 71.604, 58.736, 49.620, 49.100, 47.070, 45.864, 45.736, 43.174, and 31.810.

(十八) 辛弗林的 ESI-MS 圖譜

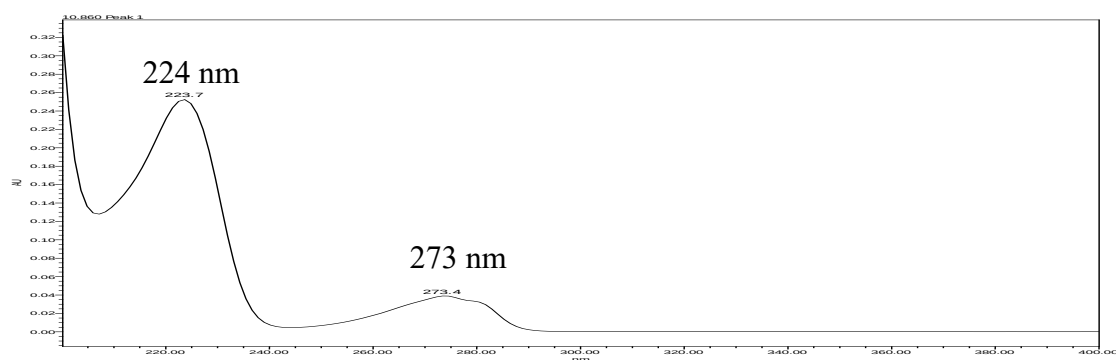


(十九) 辛弗林的 FTIR 圖譜



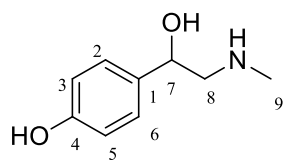
圖十二、辛弗林的 FTIR 圖譜

(二十) 辛弗林的 UV 圖譜



圖十三、辛弗林的 UV 圖譜

(二十一) 辛弗林的氫、碳化學位移



辛弗林

表七、辛弗林氫、碳化學位移(CD₃OD)^a

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1	-	135.0
2,6	7.18 (d, 8.4)	128.3
3,5	6.75 (d, 8.4)	116.2
4	-	158.2
7	4.67 (dd, 9.0, 4.2)	72.8
8	2.66 (dd, 12.6, 4.2), 2.76 (dd, 12.6, 9.0)	59.7
9	2.41 (s)	35.8

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

枳實 TLC

生藥名：AURANTII FRUCTUS IMMATURUS

英文名：Immature Bitter Orange

基 原：本品為芸香科 Rutaceae 植物酸橙 *Citrus aurantium* L. 及其栽培變種或甜橙 *Citrus sinensis* Osbeck 之乾燥幼果。

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 20 分鐘，過濾，濃縮至乾，殘渣加甲醇 0.5 mL，使之溶解，作為檢品溶液。

【萃取方法 3】《香港中藥材標準第四冊》

——取本品粉末 0.5 g，加甲醇 20 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，濃縮至乾，殘渣加甲醇 1 mL，使之溶解，作為檢品溶液。

(二) 對照藥材溶液 取辛弗林(Synephrine)對照標準品，加甲醇製成每 1 mL 含 1.0 mg 的飽和溶液，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》，香港中藥材標準第四冊》

——正丁醇：無水乙酸：水 (4：1：5) 上層溶液。

【展開劑 2】修飾《臺灣中藥典第四版 2021》✓

——正丁醇：無水乙酸：水 (7：2：1)

(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 1%水合二氫茛三酮乙醇試液(Ninhydrin/EtOH TS)噴霧後，105℃加熱至條帶顯色清晰，於可見光照射下檢視之。

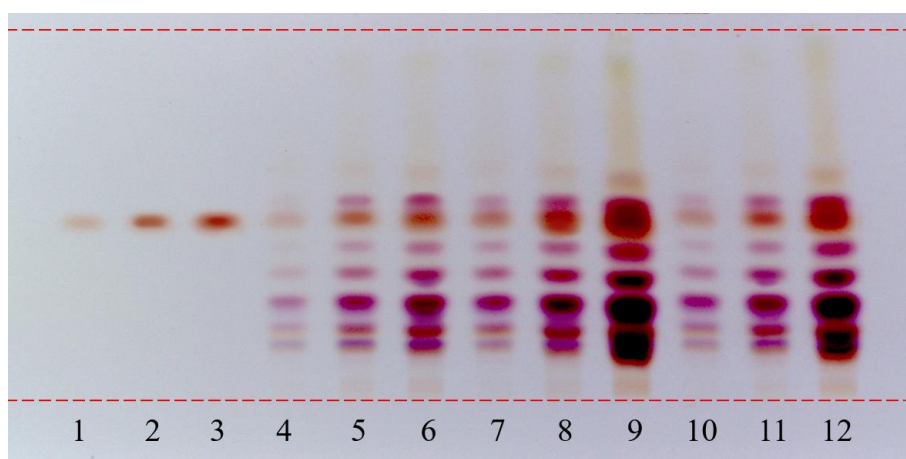
二、萃法選擇及濃度測試

實驗日期：111/11/04

相對溼度(RH)：58%

溫度(RT)：25.1 °C

【展開劑 2】修飾《臺灣中藥典第四版 2021》，《中華人民共和國藥典 2020》，
香港中藥材標準第四冊》——正丁醇：無水乙酸：水 (7：2：1)
——HPTLC 1%水合二氫茛三酮乙醇試液顯色後可見光檢出



編號	名稱	點注量
1, 2, 3	辛弗林(1.0 mg/mL)	1, 2, 5 μ L
4, 5, 6	檢品溶液 9【萃取方法 1】	2, 5, 8 μ L
7, 8, 9	檢品溶液 9【萃取方法 2】	1, 2, 5 μ L
10, 11, 12	檢品溶液 9【萃取方法 3】	1, 2, 5 μ L

建議萃法：三種萃取法之檢品溶液中皆有分離與檢出辛弗林，因方法簡便，濃度適中，故維持原臺灣中藥典【萃取方法 1】。

建議點注量：辛弗林 2 μ L，檢品溶液【萃取方法 1】5 μ L。

三、溶媒系統選擇

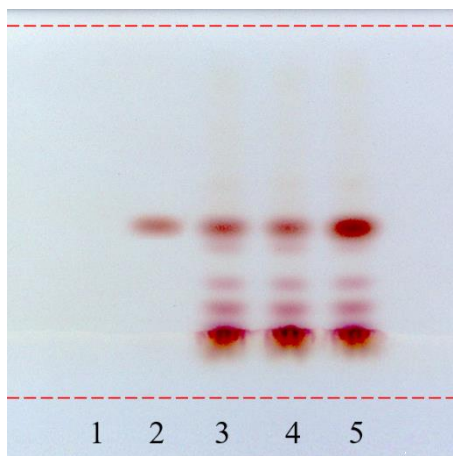
實驗日期：111/11/04

相對溼度(RH)：58%

溫度(RT)：25.1 °C

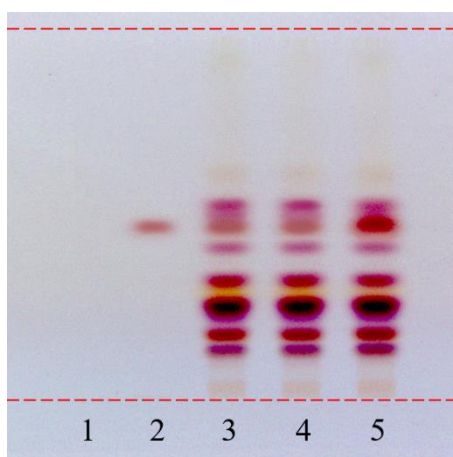
【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版 2021》，《中華人民共和國藥典 2020》，《香港中藥材標準第四冊》——正丁醇：無水乙酸：水 (4：1：5)上層溶液。

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——HPTLC 1%水合二氫茛三酮乙醇試液顯色後可見光檢出(辛弗林 R_f 值為 0.49)



【展開劑 2】修飾《臺灣中藥典第四版 2021》——正丁醇：無水乙酸：水 (7：2：1) ✓

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——HPTLC 1%水合二氫茛三酮乙醇試液顯色後可見光檢出(辛弗林 R_f 值為 0.49)



1：Blank

3，4：檢品溶液 9

2：辛弗林

5：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 1】方式，修飾《臺灣中藥典第四版 2021》之【展開劑 2】展開辛弗林 R_f 值適中，且無分層，使用方便，故採用【展開劑 2】。

四、觀察方式選擇

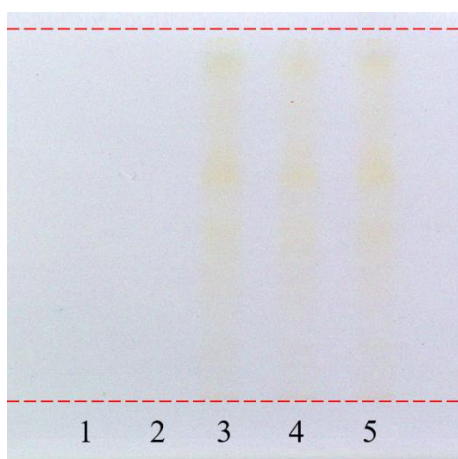
實驗日期：111/11/04

相對溼度(RH)：58%

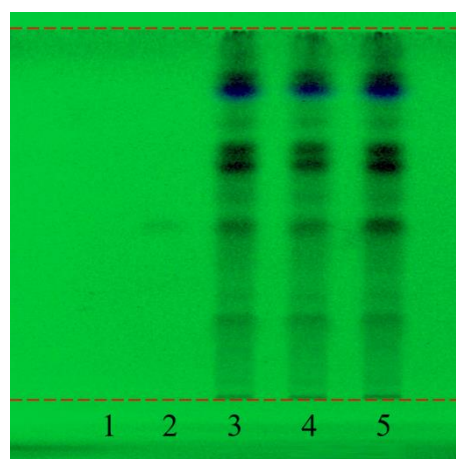
溫度(RT)：25.1 °C

【展開劑 2】修飾《臺灣中藥典第四版 2021》——正丁醇：無水乙酸：水 (7：2：1)

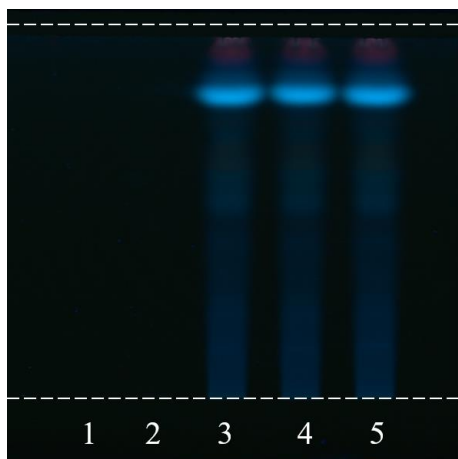
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》—HPTLC 可見光檢出



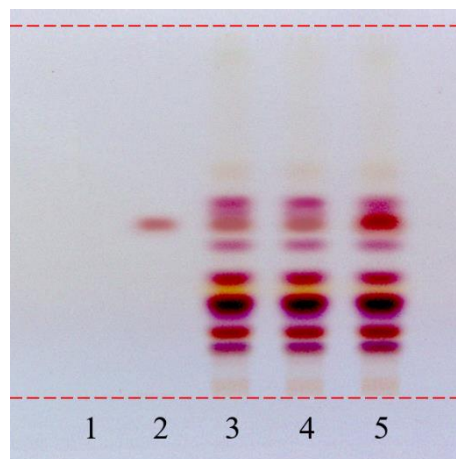
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》— HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



【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 1%水合二氫茛三酮乙醇試液顯色後可見光檢出✓



1：Blank

3，4：檢品溶液 9

2：辛弗林

5：Spike

建議觀察方式：以 1%水合二氫茛三酮乙醇試液顯色後於可見光，有較明顯分離之條帶。

五、十批枳實藥材樣品檢測

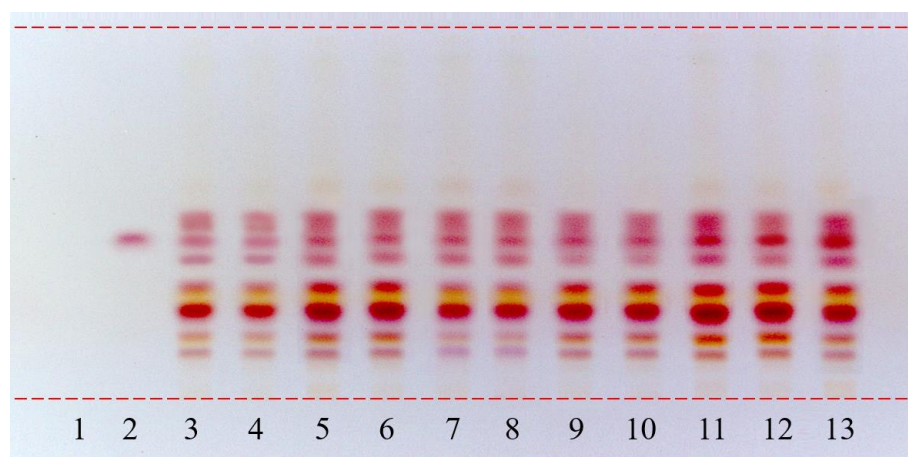
實驗日期：111/11/04

相對溼度(RH)：58%

溫度(RT)：25.1 °C

【展開劑 2】修飾《臺灣中藥典第四版 2021》——正丁醇：無水乙酸：水 (7：2：1)

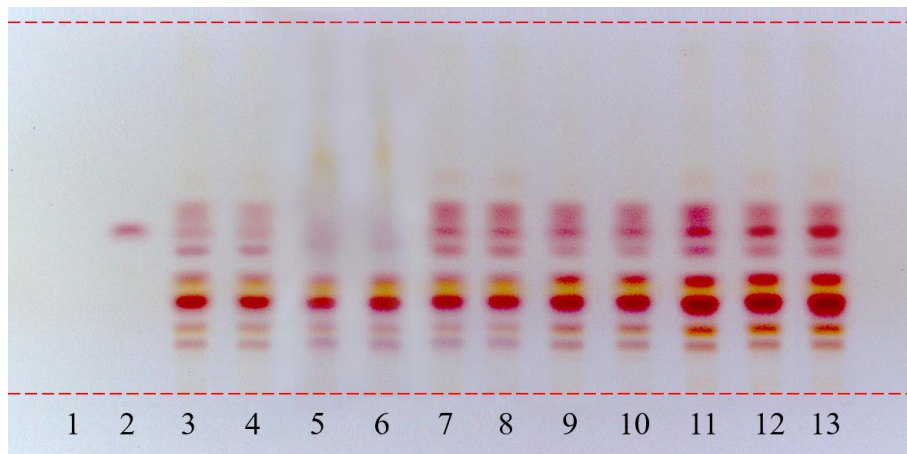
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——HPTLC 1%水合二氯節三酮乙醇試液顯色後可見光檢出



1	Blank	7, 8	檢品溶液 3 (NO2)
2	辛弗林(1.0 mg/mL)	9, 10	檢品溶液 4 (CA)
3, 4	檢品溶液 1 (NF)	11, 12	檢品溶液 5 (CE)
5, 6	檢品溶液 2 (NO1)	13	Spike (檢品溶液 9)

【展開劑 2】修飾《臺灣中藥典第四版 2021》——正丁醇：無水乙酸：水 (7：2：1)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——HPTLC 1%水合二氫茛三酮乙醇試液顯色後可見光檢出



1	Blank	7, 8	檢品溶液 8 (SUD)
2	辛弗林(1.0 mg/mL)	9, 10	檢品溶液 9 (SU2B)
3, 4	檢品溶液 6 (SA)	11, 12	檢品溶液 10 (SU2D)
5, 6	檢品溶液 7 (SUA)	13	Spike (檢品溶液 1)

結論與建議：以【萃取方法 1】方式，及修飾《臺灣中藥典第四版 2021》之【展開劑 2】分離與檢出辛弗林較佳，以 1%水合二氫茛三酮乙醇試液顯色後於可見光下檢視較佳。