

升麻

(CIMICIFUGAE RHIZOMA)

升麻 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

升麻(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.....	12

升麻(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

升麻(藥材+飲片)TLC

一、方法.....	29
二、萃法選擇及濃度測試.....	30
三、溶媒系統選擇.....	31
四、觀察方式選擇.....	34
五、十批升麻藥材樣品檢測.....	35
六、十批升麻飲片樣品檢測.....	37

升麻

(CIMICIFUGAE RHIZOMA)

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升麻的乾燥根莖。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：升麻

生藥名：CIMICIFUGAE RHIZOMA

英文名：Large-trifolious Bugbane Rhizome

基原：本品為毛茛科 Ranunculaceae 植物興安升麻 *Cimicifuga dahurica* (Turcz.) Maxim. 之乾燥根莖。

採收加工：秋季時採挖根莖，除去泥沙，曬至鬚根乾時，燎去鬚根或撞去鬚根，曬乾即得。

藥材性狀：本品為不規則長型塊狀，多分支呈結節狀，直徑 1.5~2.5 cm。表皮呈棕黑色至黑褐色，可見堅硬的細鬚根殘留或鬚根痕。常見 1 個或數個類圓形中空莖基痕，內壁顯棕色或深棕色放射狀或網狀溝。斷面不平坦，呈淡黃色或黃白色，偶可見黃綠色，纖維性。具不規則網狀或放射狀裂隙。體輕，不易折斷。氣微，味苦。

飲片性狀：本品已斜切成不規則薄片，大小不一。表皮呈棕黑色至黑褐色，可見堅硬的細鬚根殘留或鬚根痕。斷面不平坦，呈淡黃色或黃白色，偶可見黃綠色，纖維性。具不規則網狀或放射狀裂隙。偶可見髓部黑棕色或中空。體輕，不易折斷。氣微，味苦。

生長分佈：多年生草本植物，植株高 1~2 m，喜溫和濕潤氣候，耐寒、忌乾旱、忌積水，適合疏鬆深厚的砂質壤土或腐植質壤土。花期 7~9 月，果期 8~10 月。主產於中國遼寧、吉林、黑龍江、河北、山西一帶。

三、藥材組織顯微鑑別 (圖 2)

1. 後生表皮細胞 1~3 列，細胞類多角形，部分細胞外壁木栓化增厚。
2. 皮層較寬，約 10 數列，細胞長橢圓形。
3. 中柱鞘纖維束位於韌皮部外側。
4. 維管束數十個排列成環，韌皮部細胞徑向排列較整齊，形成層明顯，木質部寬廣，導管單個散在或 2~9 個徑向排列。
5. 髓線明顯，寬 2 至 10 數列細胞。
6. 髓部寬大，有時呈中空狀。

四、藥材粉末顯微鑑別 (圖 3)

1. 本品粉末呈黃棕色。
2. 後生表皮細胞黃棕色，長方形或類多角形。
3. 導管主為有緣孔紋導管，偶可見螺紋導管，直徑 8~100 μm 。
4. 纖維呈梭形，末端長尖，有的一端有明顯分岔，偶可見兩端均有分岔者，直徑 10~30 μm ，長 175~300 μm ，壁稍厚，紋孔清晰明顯。
5. 澱粉粒多為單粒，細小，較大者可見呈球形、長圓形或腎形，臍點點狀，層紋可見，直徑 2~18 μm 。



圖 1A 升麻藥材圖



圖 1B 升麻飲片藥材圖

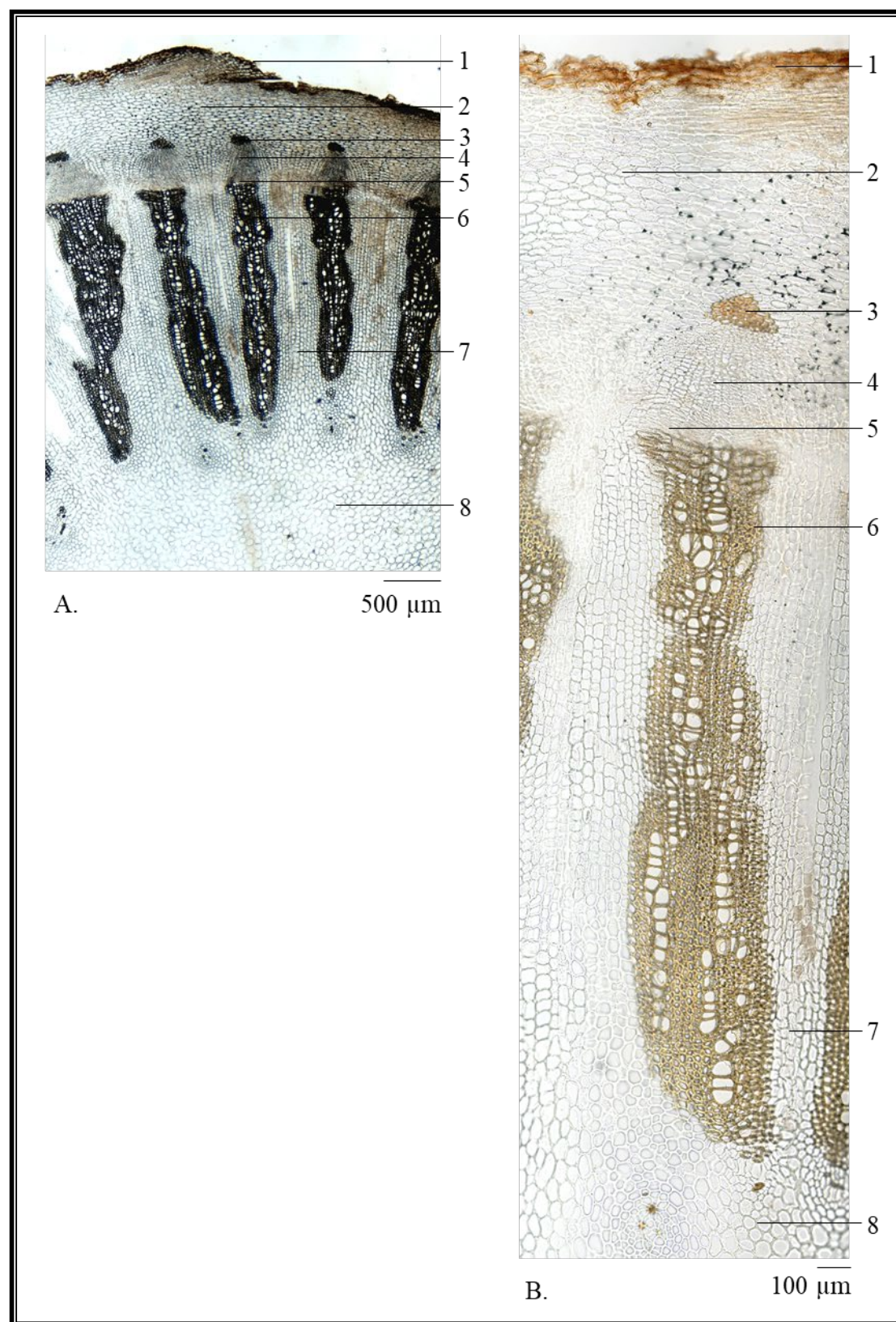


圖 2 升麻根莖橫切面顯微特徵圖

A.橫切面 B.橫切面放大圖

1.後生表皮 2.皮層 3.中柱鞘纖維 4.韌皮部 5.形成層 6.木質部 7.髓線
8.髓

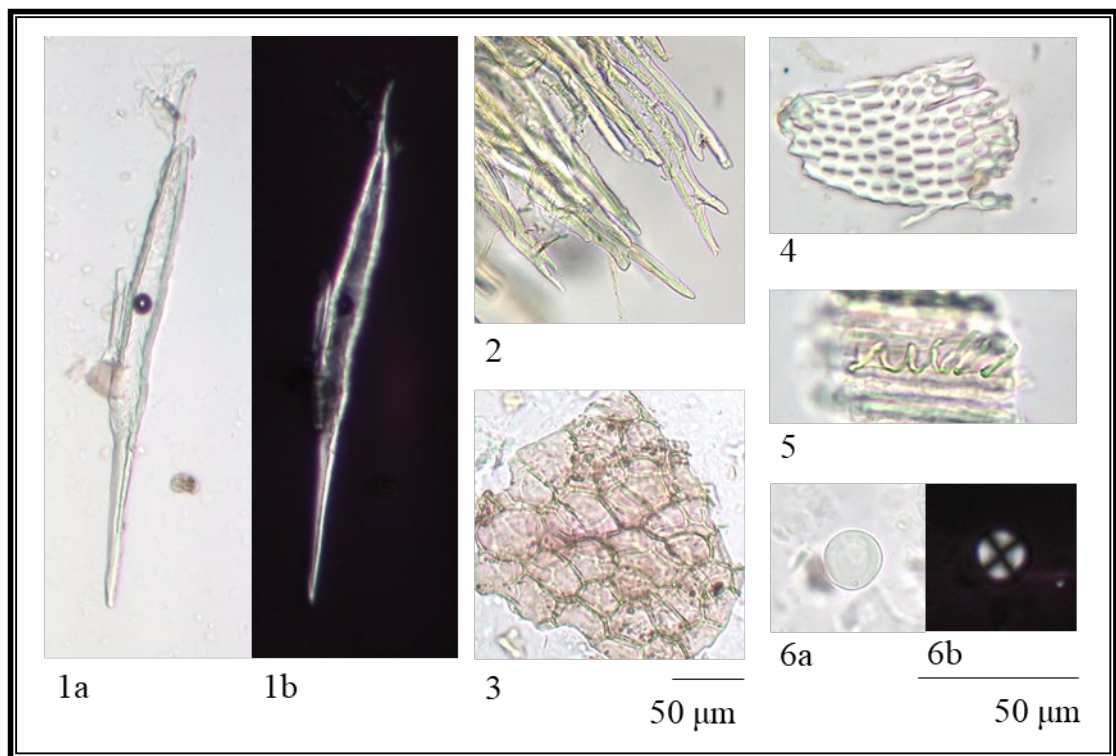


圖 3 升麻根莖粉末顯微特徵圖

a.光學顯微鏡下特徵 b.偏光顯微鏡下特徵

1.木部纖維 2.木部纖維分岔 3.後生表皮細胞 4.有緣紋孔導管 5.螺旋導管
6.澱粉粒

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。47~48 頁。
2. 戴新民(1978)。中藥栽培法。啟業書局。260 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(2008)。香港中藥材標準第二冊。香港：香港特別行政區政府衛生署中醫藥事務部。233~241 頁。
4. 肖培根等編輯(2001)。新編中藥志第一卷。北京：化學工業出版社。201~210 頁。
5. 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。129~130 頁。
6. 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。75~76 頁。
7. 李家實主編(1993)。中藥鑑定學。貴州科技出版社。137~138 頁。
8. 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。26~28 頁。
9. 徐國鈞、徐珞珊主編(1994)。常用中藥材品種整理和質量研究第一冊。福建科學技術出版社。527~556 頁。

升麻(CIMICIFUGAE RHIZOMA)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店升麻藥材共 10 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Shimadzu LC-2040C 3D，包含 Quaternary pump、Autosampler、Thermostatted column compartment、Diode-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、Sample Manager、PDA Detector；層析管柱 Waters ACQUITY UPLC BEH C18 Column (100 × 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 Mallinckrodt Baker Inc.；乙腈(99.9%)購自於 Sigma-Aldrich；乙醇(95%)購自於景明化工；磷酸(85%)購自於 Merck。

(二) 標準品

異阿魏酸(Isoferulic acid)購自於普思生物科技股份有限公司，純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取溶媒評估

取本品粉末 7 份，每份準確稱定 0.5 g，置 100 mL 圓底瓶中，準確加入甲醇、75%甲醇、50%甲醇、乙醇、75%乙醇、50%乙醇、25%乙醇各 25 mL，加熱迴流 2 小時，冷卻後補足失去重量，以 No.1 濾紙過濾，取濾液再過濾(syringe filter, PTFE 0.45 μm)，即得。每針 10 μL 注入高效液相層析儀(HPLC)，以所測得之標準品異阿魏酸最大波峰面積為最佳升麻萃取溶媒。

(二) 最佳萃取方法評估

取本品粉末 4 份，每份準確稱定 0.5 g，其中兩份置 50 mL 離心管中，準確加入 75%乙醇、50%乙醇各 25 mL，超音波振盪處理(功率 300W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，取上清液過濾(syringe filter, PTFE 0.45 μ m)，即得；另外兩份置 100 mL 圓底瓶中，準確加入 75%乙醇、50%乙醇各 25 mL，加熱迴流 2 小時，冷卻後補足失去重量，以 No.1 濾紙過濾，取濾液再過濾(syringe filter, PTFE 0.45 μ m)，即得。每針 10 μ L 注入 HPLC，以所測得之標準品異阿魏酸最大波峰面積為最佳升麻萃取方法。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取標準品異阿魏酸 1.0 mg，加 1 mL 75%乙醇製成每 1 mL 含異阿魏酸 1000 μ g 的標準品儲備溶液，並以 75%乙醇稀釋至 20 μ g/mL 製成對照標準品溶液。

(四) 檢品溶液

準確稱取本品粉末約 0.5 g，置 100 mL 圓底瓶中，準確加入 75%乙醇 25 mL，加熱迴流 2 小時，冷卻後補足失去重，以 No.1 濾紙過濾，取濾液再過濾(syringe filter, PTFE 0.45 μ m)，即得。

(五) 測定法

準確吸取對照標準品溶液、檢品溶液 10 μ L，注入 HPLC，測定，用標準曲線計算溶液中標準品異阿魏酸的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取異阿魏酸標準品儲備溶液(1000 μ g/mL)適量，以 75%乙醇稀釋製成含異阿魏酸分別為 200、100、50、40、20、10、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

以異阿魏酸濃度為 20 μ g/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以異阿魏酸的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性：取同一批市售升麻粉末，依升麻檢品溶液製備方法平行製備 5 份升麻檢品溶液，進樣測定，以異阿魏酸的含量(%)為指標，求出相對標準差。

2. 穩定性：取同一批市售升麻粉末，依升麻檢品溶液製備方法製備升麻檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以異阿魏酸的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(九) 偵測極限與定量極限試驗

1. 偵測極限(Limit of Detection, LOD)：將已知濃度之標準品溶液不斷稀釋，並以訊號雜訊比 $\geq 3:1$ 時之濃度，作為偵測極限估計值。
2. 定量極限(Limit of Quantification, LOQ)：將已知濃度之標準品溶液不斷稀釋，並以訊號雜訊比 $\geq 10:1$ 時之濃度，作為定量極限估計值。

(十) 添加回收率試驗

取已知異阿魏酸含量的升麻粉末 5 份，每份準確稱取約 0.25 g，分別加入 0.3 mL 的異阿魏酸溶液(1.0 mg/mL)，並按檢品溶液製備方法操作測定。

(十一) HPLC 分析條件

1. 層析管：COSMOSIL 5C₁₈ AR-II-C18 Column (250 × 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：325 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：室溫
5. 注入量：10 μ L
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	15	85
20	15	85

(十二) 臺灣市售升麻含量測定

取 10 批市售升麻依檢品溶液製備方法製備檢品溶液，取各 10 μ L 連續 3 針注入 HPLC，所得平均波峰面積依附錄 I 公式計算樣品異阿魏酸的百分含量。

(十三) 升麻檢品之 UPLC 層析條件

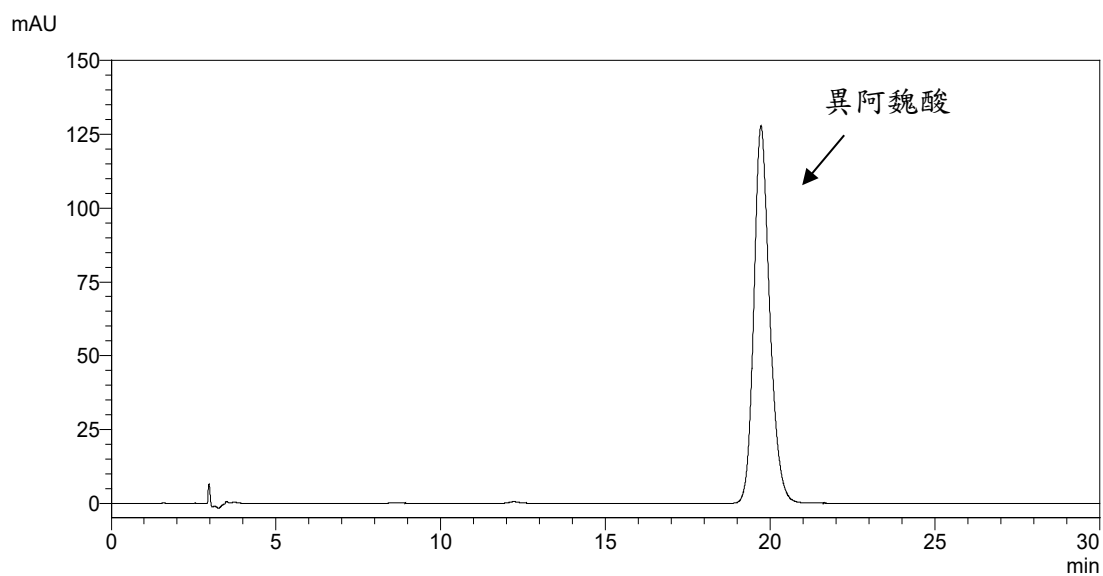
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC BEH C18 Column (100 × 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：325 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：室溫
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	15	85
10	15	85

五、結果

(一) 標準品異阿魏酸之 HPLC 層析

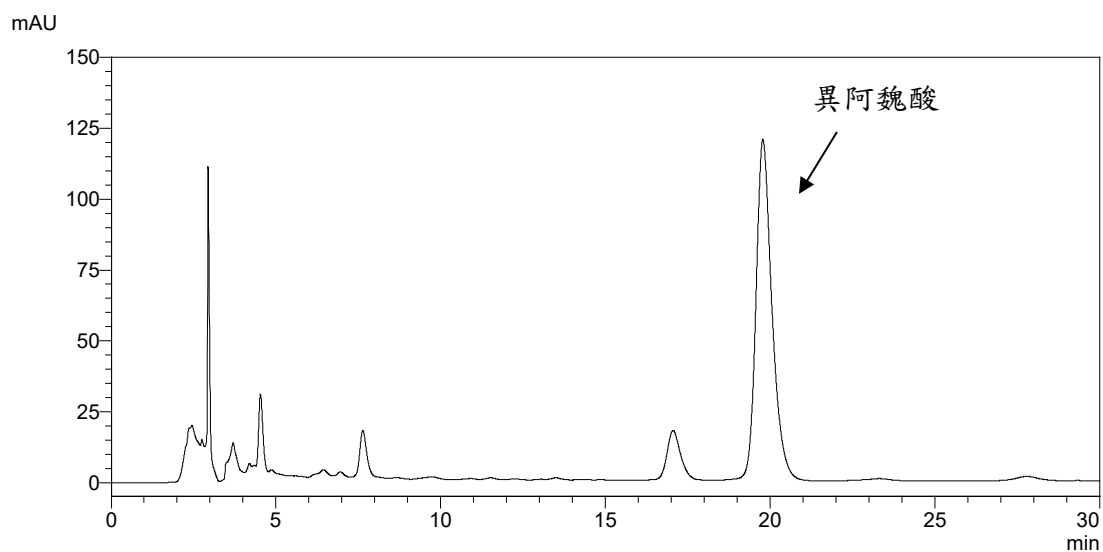
於滯留時間 19.7 分鐘處顯示異阿魏酸標準品波峰(圖一)。



圖一、異阿魏酸標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售升麻檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 19.7 分鐘顯示升麻檢品中異阿魏酸的波峰(圖二)。異阿魏酸之分離率(R)為 3.48，托尾因子(T)為 1.13，均在系統適用性要求內。



圖二、市售升麻檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳萃取溶媒評估

以 75%乙醇為溶媒時，每克藥材重量所得異阿魏酸的波峰面積最大，顯示 75%乙醇為最佳萃取溶媒。

表一、不同溶媒萃取比較

溶媒	異阿魏酸波峰面積	最佳萃取
甲醇	3492005	
75%甲醇	3570686	
50%甲醇	3606946	
乙醇	3512254	
75%乙醇	3983643	√
50%乙醇	3947742	
25%乙醇	3895130	

(四) 最佳萃取方法評估

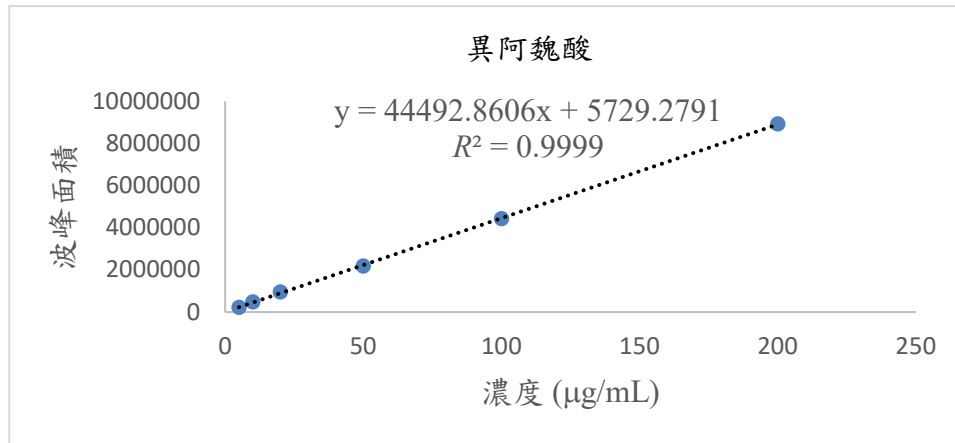
結果顯示以 75%乙醇加熱迴流為最佳萃取方法。

表二、不同萃取方法評估

方法	異阿魏酸波峰面積	最佳萃取
75%乙醇加熱迴流	3983643	√
75%乙醇超音波振盪	3432592	
50%乙醇加熱迴流	3947742	
50%乙醇超音波振盪	3345126	

(五) 標準品異阿魏酸檢量線

經不同濃度異阿魏酸(x)對各自層析波峰面積的反應值(y)所得到的檢量線方程式為 $y = 44492.8606x + 5729.2791$ ， $R^2 = 0.9999$ ，顯示濃度在 5.0–200 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、標準品異阿魏酸之檢量線圖

表三、異阿魏酸之檢量線方程式

對照標準品	濃度(μg/mL)	線性回歸方程式	R^2
異阿魏酸	5.0–200	$y = 44,492.8606x + 5,729.2791$	0.9999

(六) 精密度試驗

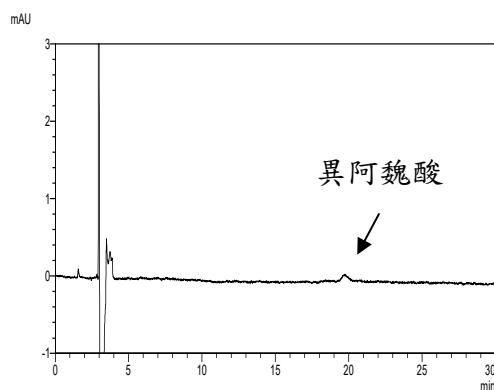
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，異阿魏酸精密度之相對標準差為 0.08%，在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

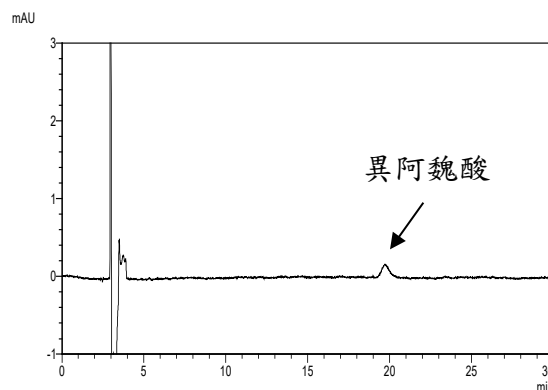
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，異阿魏酸重複性之相對標準差為 2.08%，在系統適用性要求內。異阿魏酸在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準差為 0.55%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

異阿魏酸偵測極限為 0.05 μg/mL (圖四)，定量極限為 0.1 μg/mL (圖五)。



圖四、異阿魏酸之偵測極限層析圖



圖五、異阿魏酸之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	20 µg/mL	0.08
重複性 (n=5)	檢品溶液(No. 8)	2.08
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No. 8)	0.55
偵測極限 (n=1)	0.05 µg/mL	-
定量極限 (n=1)	0.1 µg/mL	-

(九) 添加回收率試驗

異阿魏酸平均添加回收率為 99.6%，相對標準偏差為 2.20% (表五)。

表五、異阿魏酸添加回收率

編號	藥材稱重(g) (No. 8)	含有量 (mg)	加入量 (mg)	測得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	R.S.D. (%)
1	0.2545	0.637	0.30	0.947	103.2	99.59	2.20
2	0.2532	0.634	0.30	0.933	99.6		
3	0.2552	0.639	0.30	0.932	97.6		
4	0.2537	0.635	0.30	0.929	98.1		
5	0.2563	0.642	0.30	0.940	99.4		

(十) 臺灣市售升麻含量測定

10 批升麻之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，異阿魏酸含量為 0.266–0.519%。建議升麻藥材指標成分異阿魏酸的含量不得少於 0.10%。理論板數按異阿魏酸波峰計算應不低於 5000 (實際值為 120315)。

表六、臺灣市售升麻檢品之異阿魏酸含量

藥材編號(No.)	異阿魏酸含量(%)
1 (ND)	0.280
2 (SU1-A)	0.318
3 (CF)	0.338
4 (NF)	0.290
5 (NK)	0.519
6 (CB)	0.275
7 (NE)	0.304
8 (SB)	0.286
9 (NH)	0.266
10 (NC)	0.266

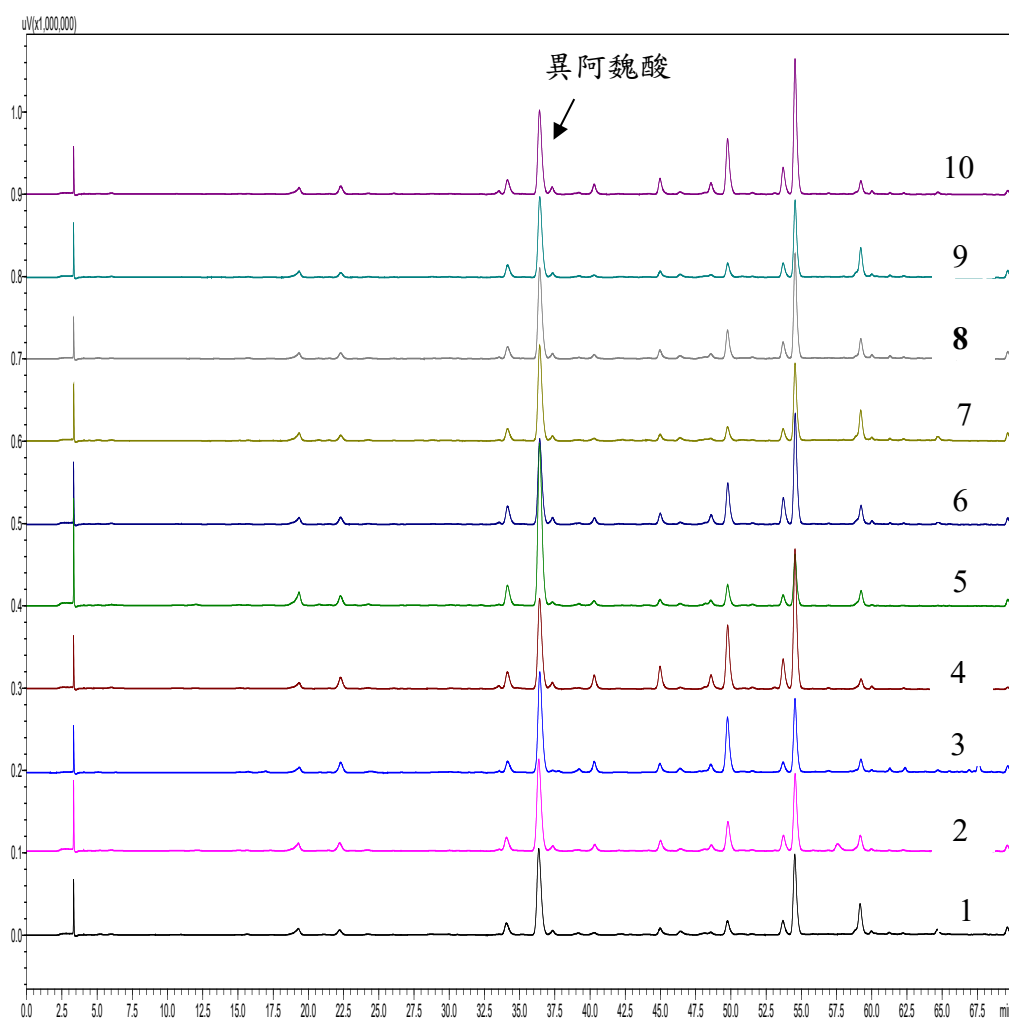
平均值±S.D.	0.314 ± 0.075
----------	---------------

(十一) 升麻藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售升麻藥材檢品溶液各 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 × 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：325 nm
3. 管柱溫度：室溫
4. 流速：1.0 mL/min
5. 注入量：10 μ L
6. 移動相：

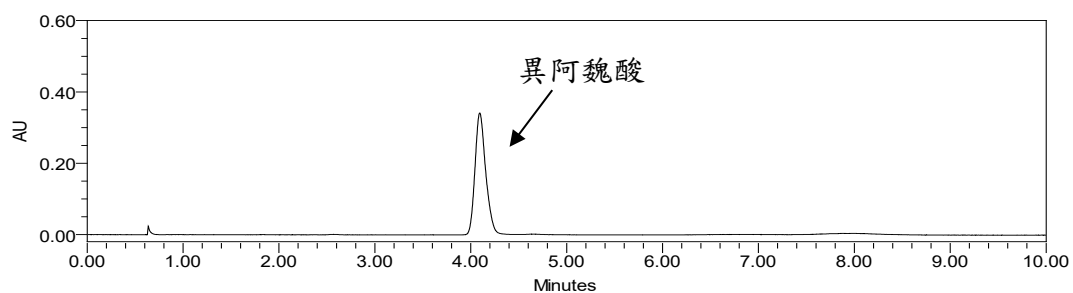
時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	5	95
5	5	95
50	25	75
70	50	50



圖六、10 批升麻之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 標準品異阿魏酸之 UPLC 層析

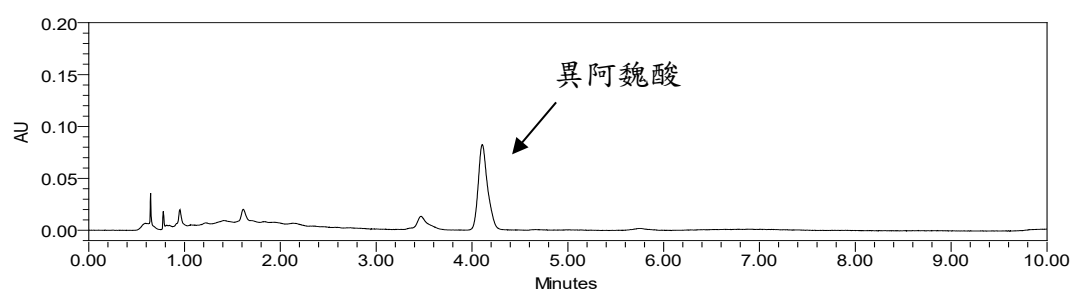
於滯留時間 4.09 分鐘顯示異阿魏酸標準品的波峰(圖七)。



圖七、異阿魏酸標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售升麻檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 4.11 分鐘顯示升麻檢品中異阿魏酸的波峰(圖八)。

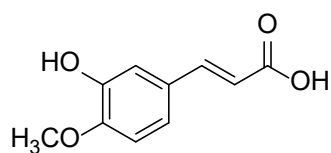


圖八、市售升麻檢品之 UPLC 層析圖

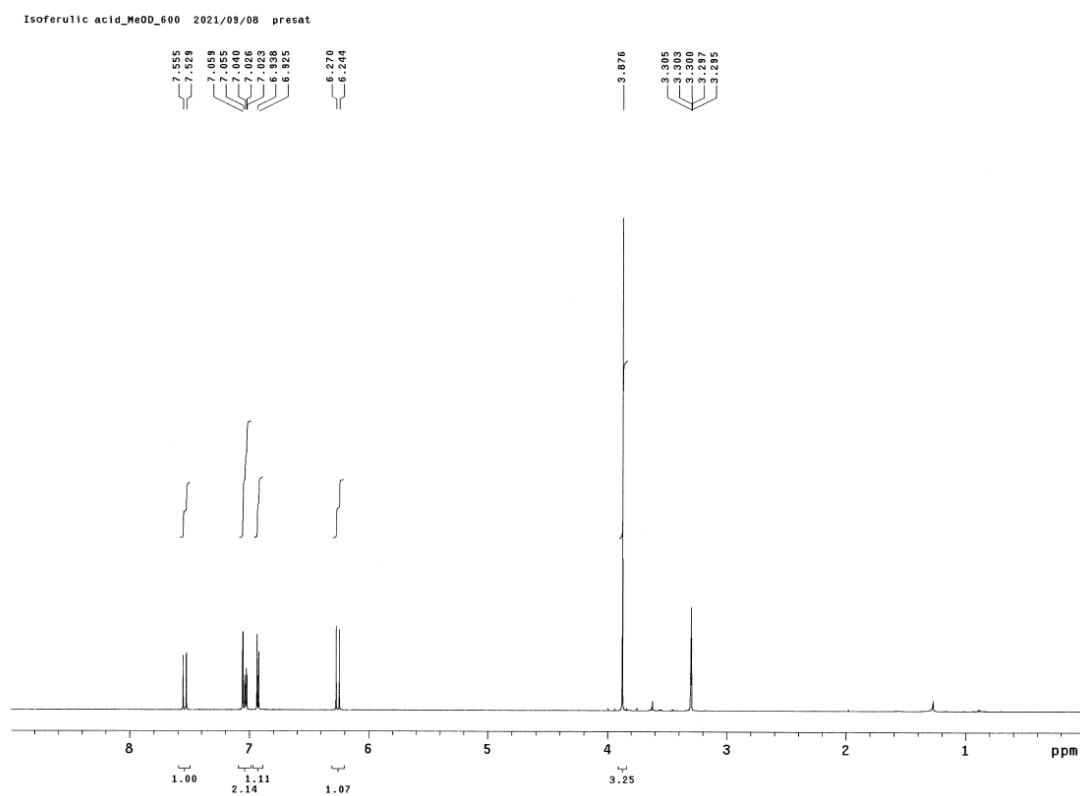
(十四) 異阿魏酸的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{10}H_{10}O_4$ ；分子量：194.18；熔點：226–228 °C；白色固體。

(十五) 異阿魏酸的結構

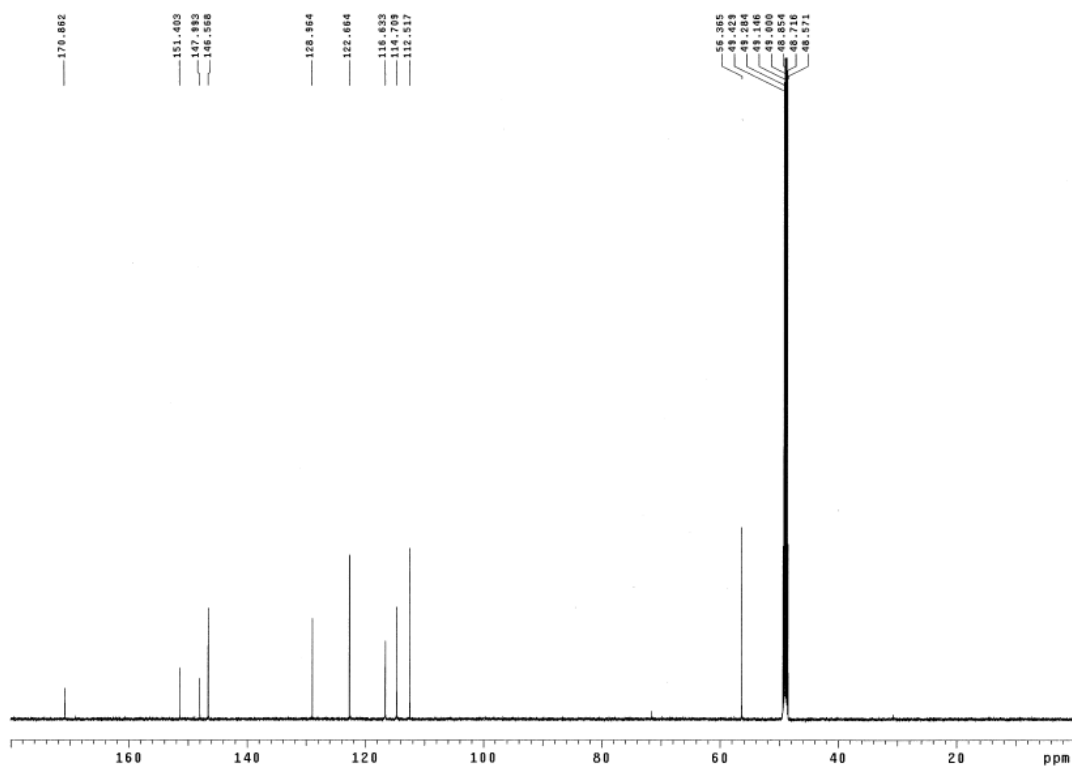


(十六) 異阿魏酸的 ^1H NMR 圖譜



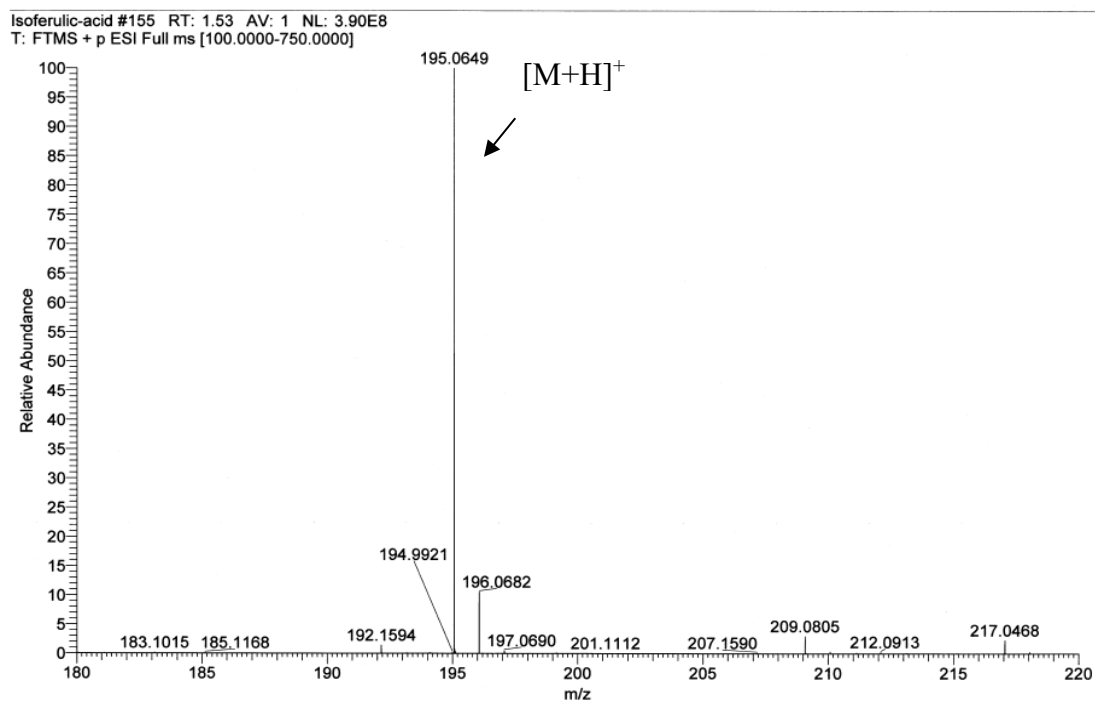
圖九、異阿魏酸的 ^1H NMR 圖譜(CD_3OD)

(十七) 異阿魏酸的 ^{13}C NMR 圖譜



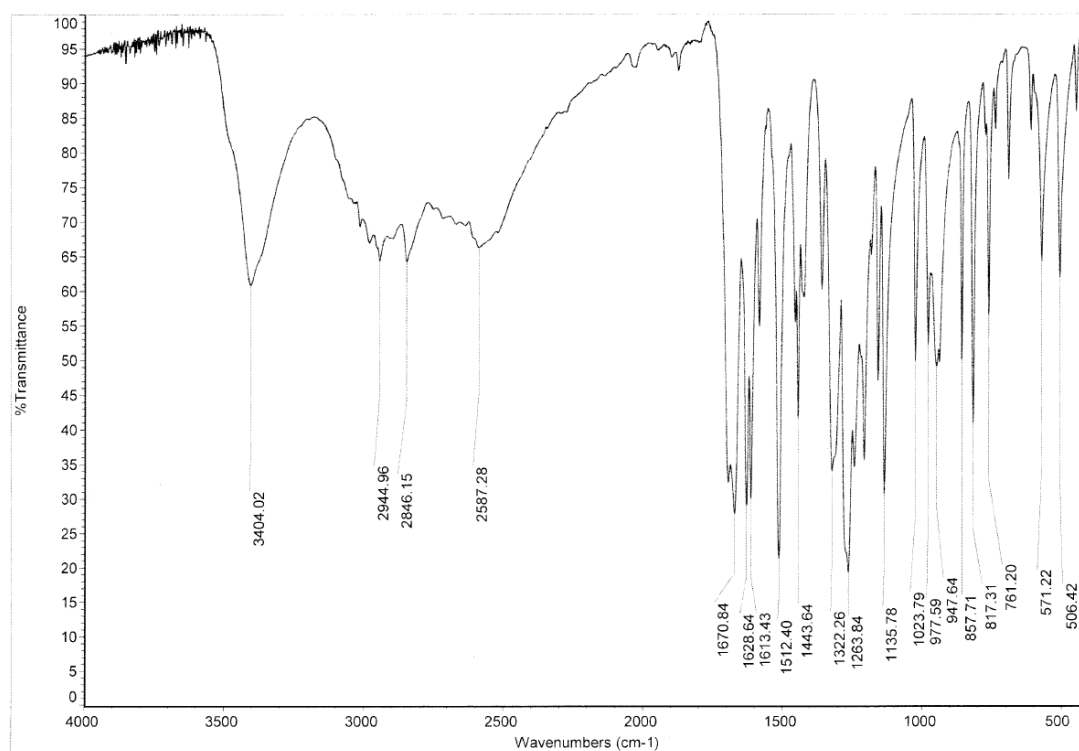
圖十、異阿魏酸的 ^{13}C NMR 圖譜(CD_3OD)

(十八) 異阿魏酸的 ESI-MS 圖譜



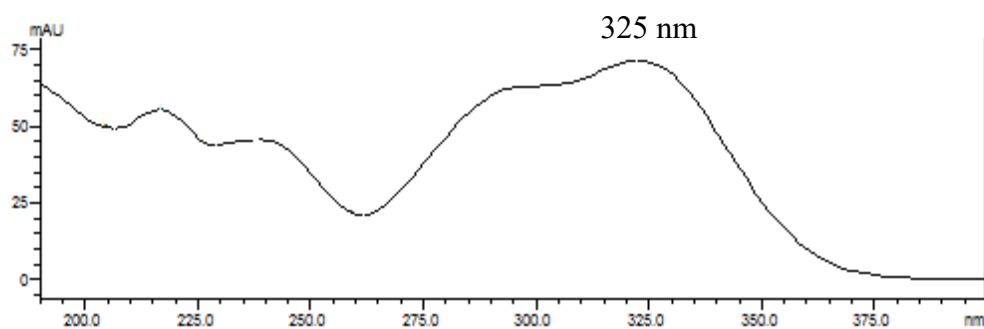
圖十一、異阿魏酸的 ESI-MS 圖譜

(十九) 異阿魏酸的 FTIR 圖譜



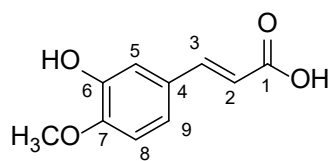
圖十二、異阿魏酸的 FTIR 圖譜

(二十) 異阿魏酸的 UV 圖譜



圖十三、異阿魏酸的 UV 圖譜

(二十一) 異阿魏酸的氫、碳化學位移



異阿魏酸

表七、異阿魏酸的氫、碳化學位移(CD₃OD)

position	δ_H (600 MHz) ^a	δ_C (150 MHz)
1	-	170.9
2	6.26 (d, 15.6)	116.6
3	7.54 (d, 15.6)	146.6
4	-	129.0
5	7.06 (d, 2.4)	114.7
6	-	148.0
7	-	151.4
8	6.93 (d, 7.8)	112.5
9	7.03 (dd, 7.8, 2.4)	122.7
7-OCH ₃	3.88 (s)	56.4

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

升麻飲片(CIMICIFUGAE RHIZOMA)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店升麻飲片共 10 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Shimadzu LC-2040C 3D，包含 Quaternary pump、Autosampler、Thermostatted column compartment、Diode-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、Sample Manager、PDA Detector；層析管柱 Waters ACQUITY UPLC BEH C18 Column (100 × 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 Mallinckrodt Baker Inc.；乙腈(99.9%)購自於 Sigma-Aldrich；乙醇(95%)購自於景明化工；磷酸(85%)購自於 Merck。

(二) 標準品

異阿魏酸(Isoferulic acid)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

升麻飲片萃取溶媒同升麻藥材。

(二) 最佳萃取方法評估

升麻飲片萃取方法同升麻藥材。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取標準品異阿魏酸 1.0 mg，加 1 mL 75%乙醇製成每 1 mL 含異阿魏酸 1000 µg 的標準品儲備溶液，並以 75%乙醇稀釋至 20 µg/mL 製成對照標準品溶液。

(四) 檢品溶液

準確稱取本品粉末約 0.5 g，置 100 mL 圓底瓶中，準確加入 75%乙醇 25 mL，加熱迴流 2 小時，冷卻後補足失去重量，以 No.1 濾紙過濾，取濾液再過濾(syringe filter, PTFE 0.45 µm)，即得。

(五) 測定法

準確吸取對照標準品溶液、檢品溶液 10 µL，注入 HPLC，測定，用標準曲線計算溶液中標準品異阿魏酸的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取異阿魏酸標準品儲備溶液(1000 µg/mL)適量，以 75%乙醇稀釋製成含異阿魏酸分別為 200、100、50、40、20、10、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

以異阿魏酸濃度為 20 µg/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以異阿魏酸的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性：取同一批市售升麻飲片粉末，依升麻飲片檢品溶液製備方法平行製備 5 份升麻飲片檢品溶液，進樣測定，以異阿魏酸的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售升麻飲片粉末，依升麻飲片檢品溶液製備方法製備升麻飲片檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以異阿魏酸的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(九) 偵測極限與定量極限試驗

1. 偵測極限(Limit of Detection, LOD)：將已知濃度之標準品溶液不斷稀釋，並以訊號雜訊比 $\geq 3:1$ 時之濃度，作為偵測極限估計值。
2. 定量極限(Limit of Quantification, LOQ)：將已知濃度之標準品溶液不斷稀釋，並以訊號雜訊比 $\geq 10:1$ 時之濃度，作為定量極限估計值。

(十) 添加回收率試驗

取已知異阿魏酸含量的升麻飲片粉末 5 份，每份準確稱取約 0.25 g，分別加入 0.22 mL 的異阿魏酸溶液(1.0 mg/mL)，並按檢品溶液製備方法操作測定。

(十一) HPLC 分析條件

1. 層析管：COSMOSIL 5C₁₈ AR-II-C18 Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：325 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：室溫
5. 注入量：10 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	15	85
20	15	85

(十二) 臺灣市售升麻飲片含量測定

取 10 批市售升麻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 公式計算樣品異阿魏酸的百分含量。

(十三) 升麻檢品之 UPLC 層析條件

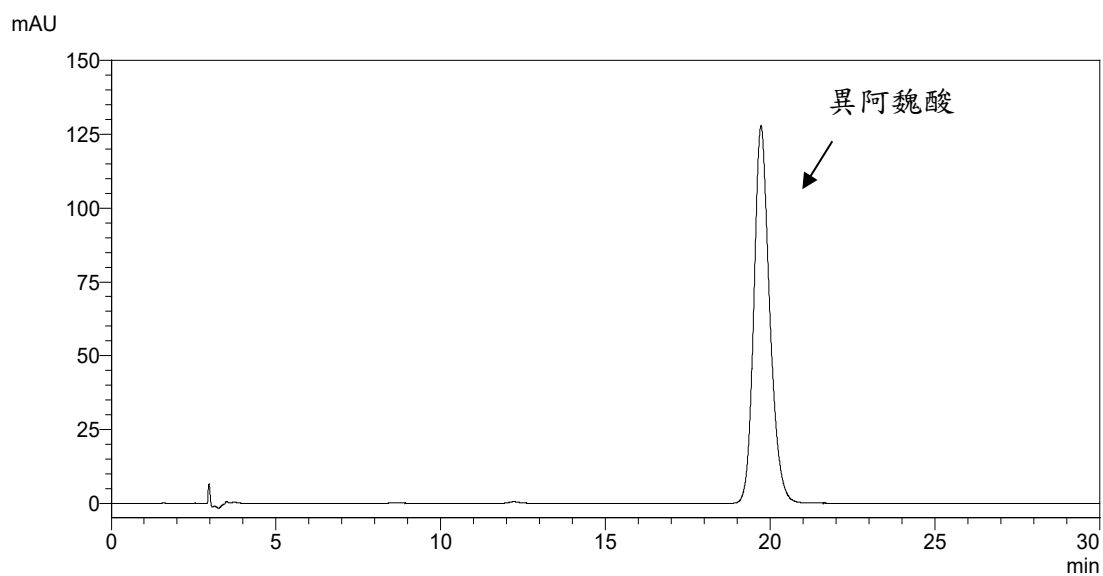
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC BEH C18 Column (100 × 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：325 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：室溫
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	15	85
10	15	85

五、結果

(一) 標準品異阿魏酸之 HPLC 層析

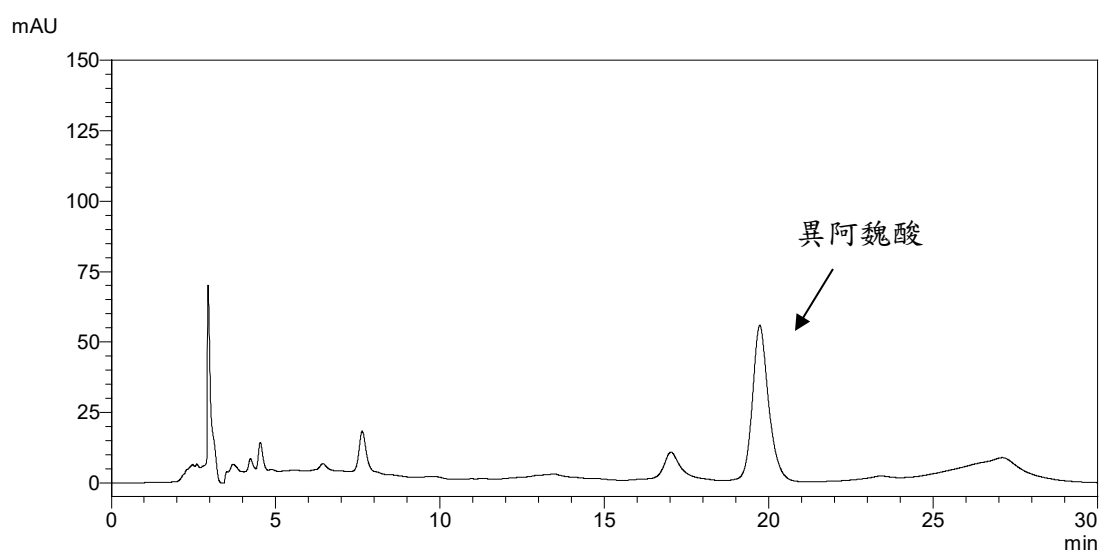
於滯留時間 19.7 分鐘處顯示異阿魏酸標準品波峰(圖一)。



圖一、異阿魏酸標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售升麻飲片檢品之 HPLC 層析

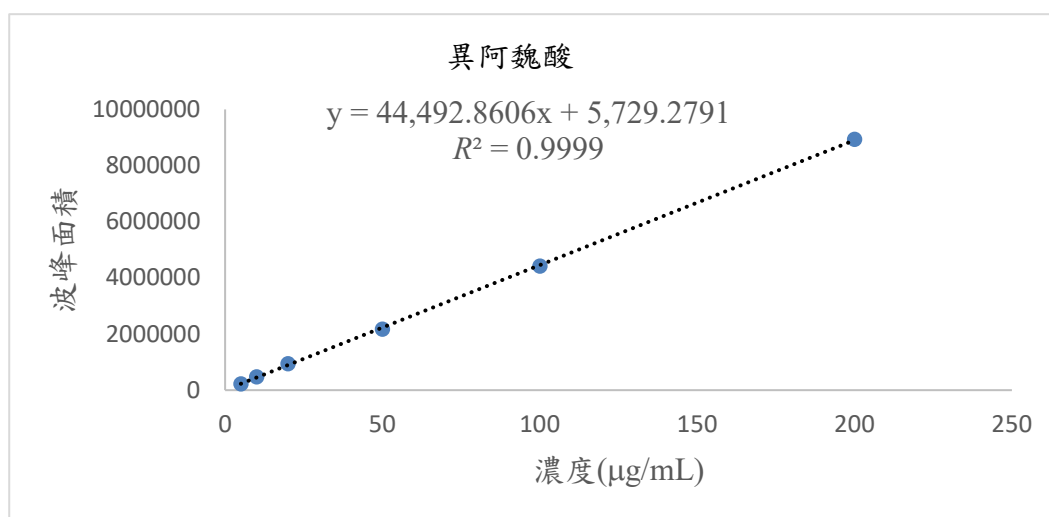
於滯留時間 19.7 分鐘顯示升麻飲片檢品中異阿魏酸的波峰(圖二)。異阿魏酸之分離率(R)為 3.16，托尾因子(T)為 1.09，均在系統適用性要求內。



圖二、市售升麻檢品之 HPLC 層析圖

(三) 標準品異阿魏酸檢量線

經不同濃度異阿魏酸(x)對各自層析波峰面積的反應值(y)所得到的檢量線方程式為 $y = 44492.8606x + 5729.2791$ ， $R^2 = 0.9999$ ，顯示濃度在 5.0–200 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、標準品異阿魏酸之檢量線圖

表一、異阿魏酸之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
異阿魏酸	5.0–200	$y = 44,492.8606x + 5,729.2791$	0.9999

(四) 精密度試驗

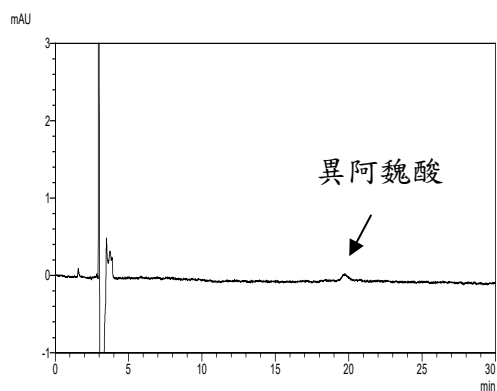
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，異阿魏酸精密度之相對標準差為 0.1%，在系統適用性要求內。

(五) 重複性與穩定性試驗

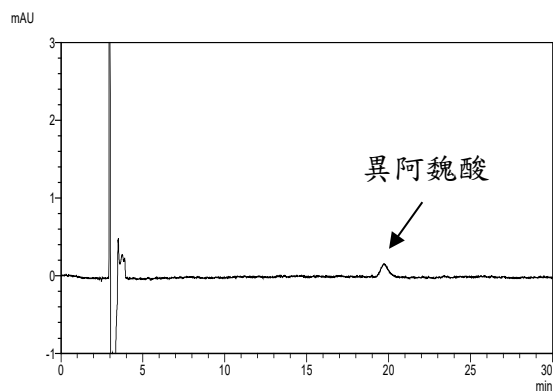
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，異阿魏酸重複性之相對標準差為 2.17%，在系統適用性要求內。異阿魏酸在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準差為 1.1%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(六) 偵測極限與定量極限試驗

異阿魏酸偵測極限為 0.05 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 0.1 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、異阿魏酸之偵測極限層析圖



圖五、異阿魏酸之定量極限層析圖

表二、各項檢驗分析

檢測項目	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	20 µg/mL	0.1
重複性 (n=5)	檢品溶液(No. 1)	2.17
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No. 1)	1.1
偵測極限 (n=1)	0.05 µg/mL	-
定量極限 (n=1)	0.1 µg/mL	-

(七) 添加回收率試驗

異阿魏酸平均添加回收率為 99.3%，相對標準偏差為 4.81% (表三)。

表三、異阿魏酸添加回收率

編號	飲片稱重(g) (No. 1)	含有量 (mg)	加入量 (mg)	測得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	R.S.D. (%)
1	0.2521	0.534	0.22	0.744	95.6	99.34	4.81
2	0.2586	0.547	0.22	0.783	106.9		
3	0.2514	0.532	0.22	0.741	94.6		
4	0.2521	0.534	0.22	0.754	100.0		
5	0.2563	0.542	0.22	0.761	99.2		

(八) 臺灣市售升麻含量測定

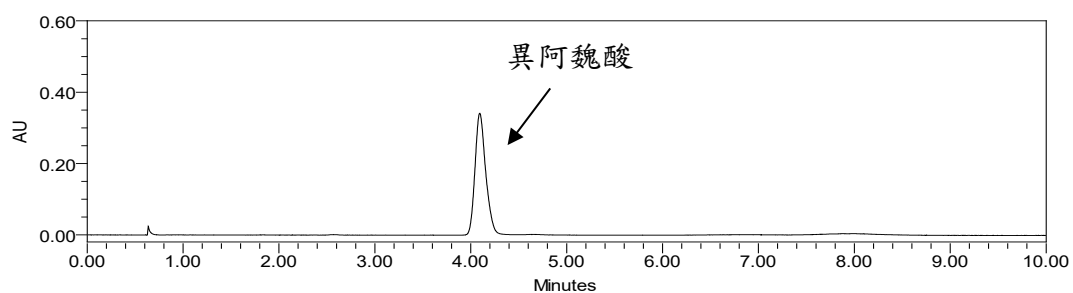
10 批升麻飲片之含量測定結果(乾燥品)如表四所示，異阿魏酸含量為 0.209–0.284%。建議升麻飲片指標成分異阿魏酸的含量不得少於 0.10%。理論板數按異阿魏酸波峰計算應不低於 5000 (實際值為 55325)。

表四、臺灣市售升麻飲片檢品之異阿魏酸含量

飲片編號(No.)	異阿魏酸含量(%)
1 (NJ)	0.242
2 (SU1-B)	0.251
3 (CB-1)	0.284
4 (SG-B)	0.210
5 (SU1-C)	0.231
6 (SU1-D)	0.226
7 (CH)	0.250
8 (SG-A)	0.209
9 (NH-1)	0.265
10 (NC-1)	0.264
平均值±S.D.	0.243 ± 0.025

(九) 標準品異阿魏酸之 UPLC 層析

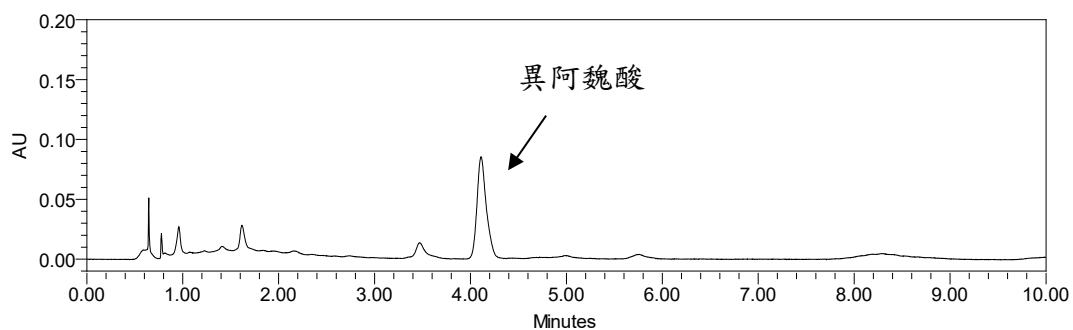
於滯留時間 4.09 分鐘顯示異阿魏酸標準品的波峰(圖六)。



圖六、異阿魏酸標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十) 市售升麻飲片檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 4.11 分鐘顯示升麻飲片檢品中異阿魏酸的波峰(圖七)。



圖七、市售升麻飲片檢品之 UPLC 層析圖

升麻

生藥名：CIMICIFUGAE RHIZOMA

英文名：Large trifolious Bugbane Rhizome

基 原：本品為毛茛科 Ranunculaceae 植物升麻 *Cimicifuga foetida* L.、大三葉升麻 *Cimicifuga heracleifolia* Kom. 或興安升麻 *Cimicifuga dahurica* (Turcz.) Maxim. 之乾燥根莖。

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，加熱迴流 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》，《香港中藥材標準第二冊》✓
——取本品粉末 1.0 g，加乙醇 50 mL，加熱迴流 1 小時，過濾，濾液蒸乾，殘渣加乙醇 1 mL 使之溶解，作為檢品溶液。
- (二) 對照藥材溶液 取阿魏酸(Ferulic acid)、異阿魏酸(Isoferulic acid)對照標準品，分別加乙醇製成每 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》，《香港中藥材標準第二冊》**
——甲苯：二氯甲烷：無水乙酸 (6：1：0.5)
【展開劑 2】《中華人民共和國藥典 2020》
——環己烷：乙酸乙酯：無水乙酸 (7：2：1)
【展開劑 3】(自行開發)✓
——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (12：6：1)
- (五) 展 開 槽 10 cm × 10 cm、20 cm × 10 cm
- (六) 展 開 展開槽預先平衡 15 分鐘，上行展開，展開距離 8 cm。
- (七) 顯色&檢視 風乾後，置於主波長 254 nm 及主波長 365 nm 之紫外燈照射下檢視。

二、萃法選擇及濃度測試

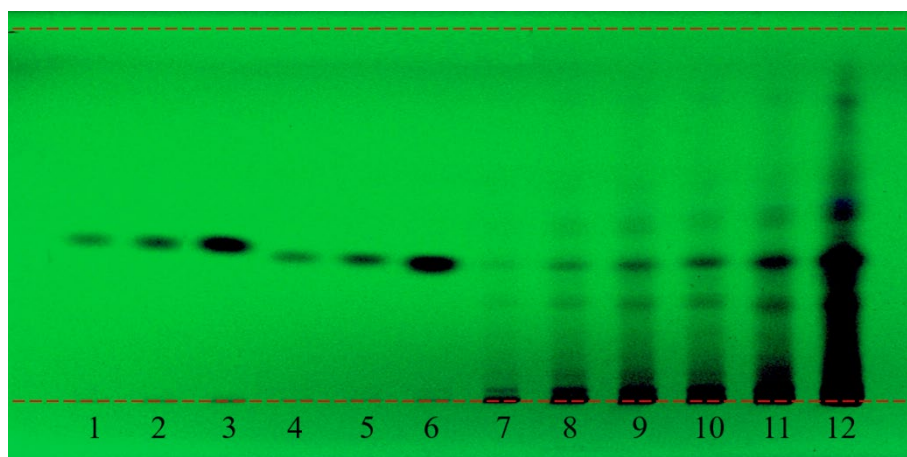
實驗日期：110/09/01

相對溼度(RH)：68%

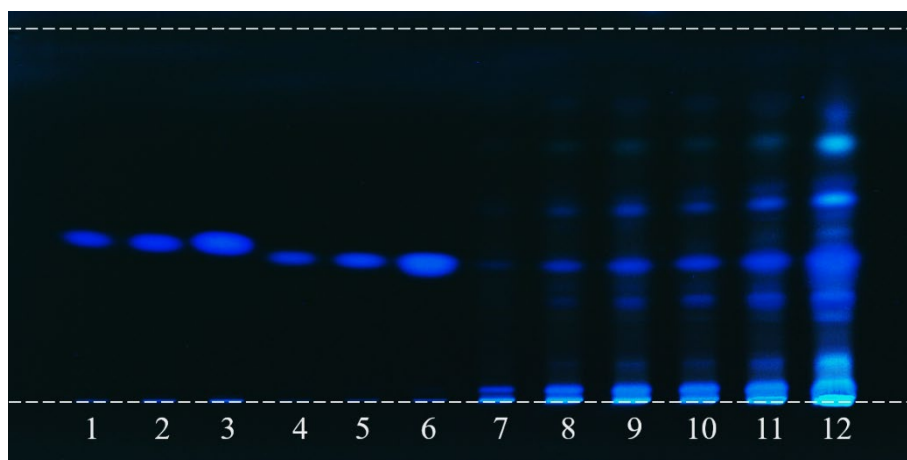
溫度(RT)：23.5 °C

【展開劑 3】(自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (12：6：1)

—HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



—HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



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

建議萃法：2 種萃法之檢品溶液中皆有分離與檢出標準品異阿魏酸，其中阿魏酸含量較低不明顯，因濃度適中，故採用【萃取方法 2】。

建議點注量：阿魏酸 2 μ L，異阿魏酸 2 μ L，檢品溶液【萃取方法 2】 2 μ L。

三、溶媒系統選擇

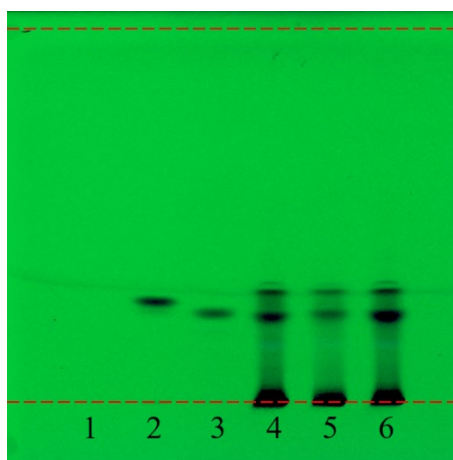
實驗日期：110/09/01

相對溼度(RH)：68%

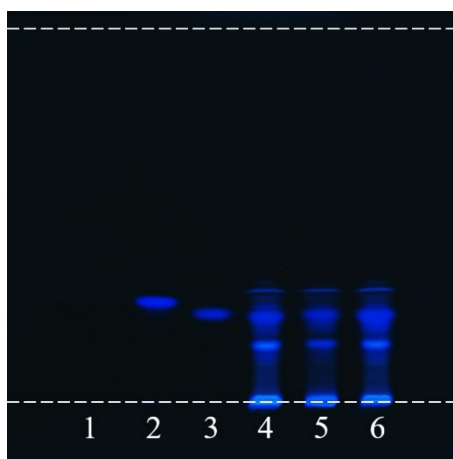
溫度(RT)：23.5 °C

【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版 2021》，《香港中藥材標準第二冊》——甲苯：二氯甲烷：無水乙酸 (6：1：0.5)

【萃取方法 2】《中華人民共和國藥典 2020》，《香港中藥材標準第二冊》
——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(阿魏酸 R_f 值為 0.27，異阿魏酸 R_f 值為 0.23)

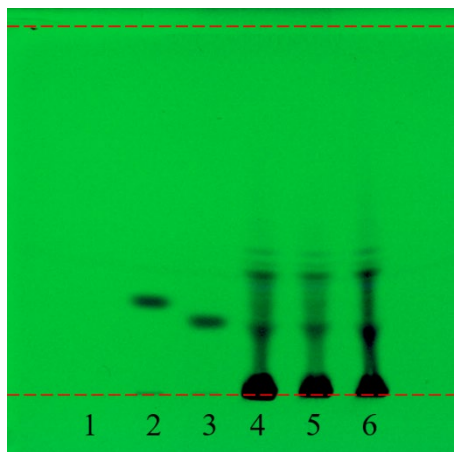


【萃取方法 2】《中華人民共和國藥典 2020》，《香港中藥材標準第二冊》
——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出(阿魏酸 R_f 值為 0.27，異阿魏酸 R_f 值為 0.23)

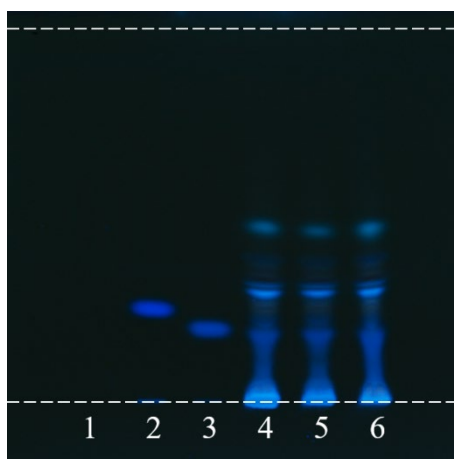


【展開劑 2】《中華人民共和國藥典 2020》——環己烷：乙酸乙酯：無水乙酸
(7：2：1)

【萃取方法 2】《中華人民共和國藥典 2020》，《香港中藥材標準第二冊》
——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(阿魏酸 R_f 值為 0.25，異阿魏酸 R_f 值為 0.18)



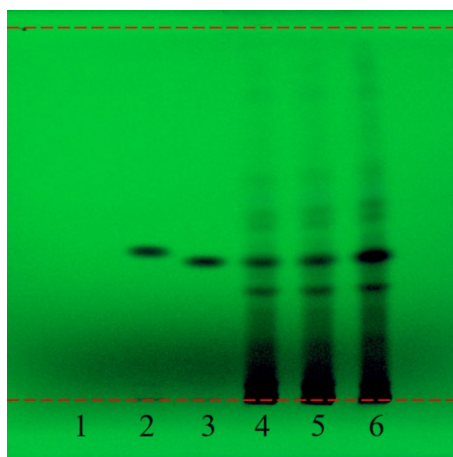
【萃取方法 2】《中華人民共和國藥典 2020》，《香港中藥材標準第二冊》
——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出(阿魏酸 R_f 值為 0.25，異阿魏酸 R_f 值為 0.18)



【展開劑 3】(自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (12：6：1) ✓

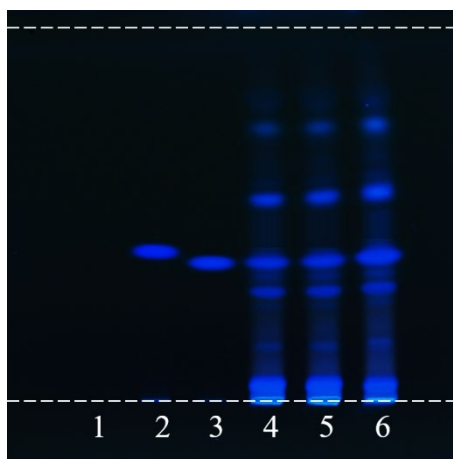
【萃取方法 2】《中華人民共和國藥典 2020》，《香港中藥材標準第二冊》

——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(阿魏酸 R_f 值為 0.4，異阿魏酸 R_f 值為 0.37)



【萃取方法 2】《中華人民共和國藥典 2020》，《香港中藥材標準第二冊》

——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出(阿魏酸 R_f 值為 0.4，異阿魏酸 R_f 值為 0.37)



1：Blank

2：阿魏酸

3：異阿魏酸

4，5：檢品溶液 9

6：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 2】方式，以自行開發之【展開劑 3】展開，阿魏酸及異阿魏酸之 R_f 值適中，且沒有使用毒性化學物質，故採用自行開發之【展開劑 4】。

四、觀察方式選擇

實驗日期：110/09/01

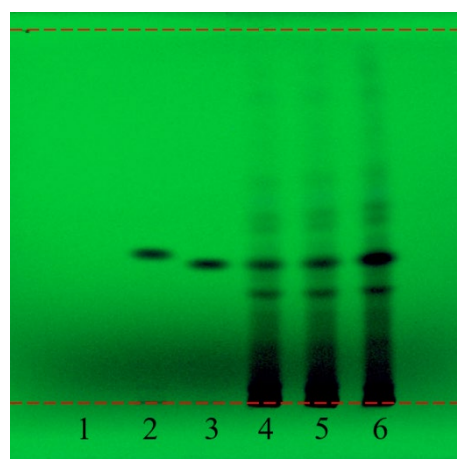
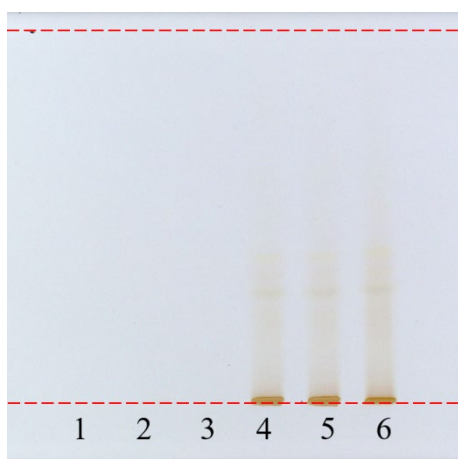
相對溼度(RH)：68%

溫度(RT)：23.5 °C

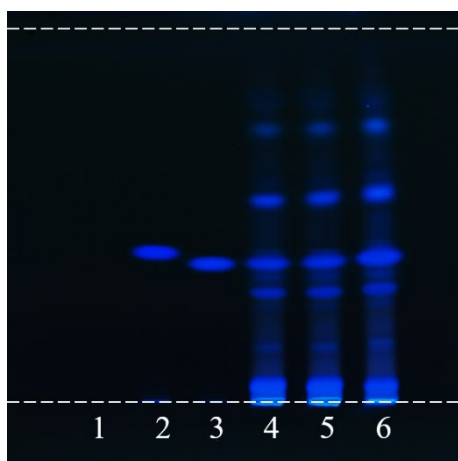
【展開劑 3】(自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (12：6：1)

【萃取方法 2】《中華人民共和國藥典 2020》，《香港中藥材標準第二冊》 — HPTLC 可見光檢出

【萃取方法 2】《中華人民共和國藥典 2020》，《香港中藥材標準第二冊》 — HPTLC 紫外光(254 nm)檢出✓



【萃取方法 2】《中華人民共和國藥典 2020》，《香港中藥材標準第二冊》 — HPTLC 紫外光(365 nm)檢出✓



1：Blank

2：阿魏酸

3：異阿魏酸

4，5：檢品溶液 9

6：Spike

建議觀察方式：於紫外光(254 nm)及紫外光(365 nm)檢視，有較明顯分離之條帶。

五、十批升麻藥材樣品檢測

實驗日期：110/09/01

相對溼度(RH)：68%

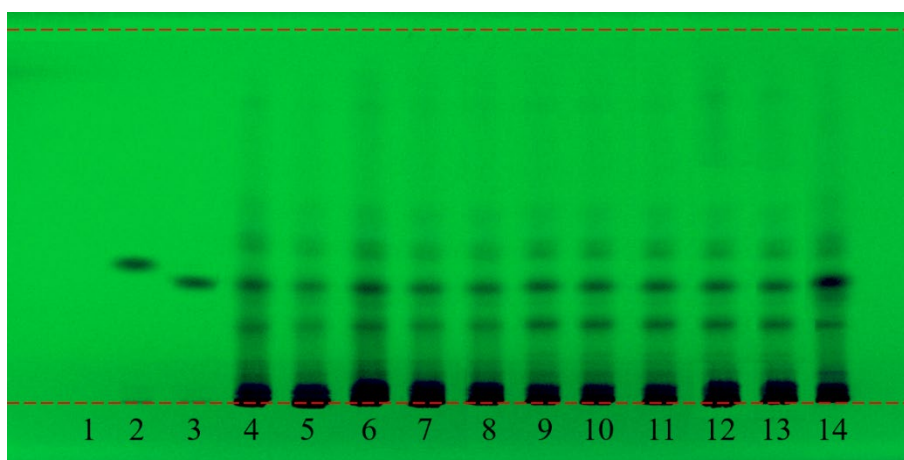
溫度(RT)：23.5 °C

【展開劑 3】(自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (12：6：1)

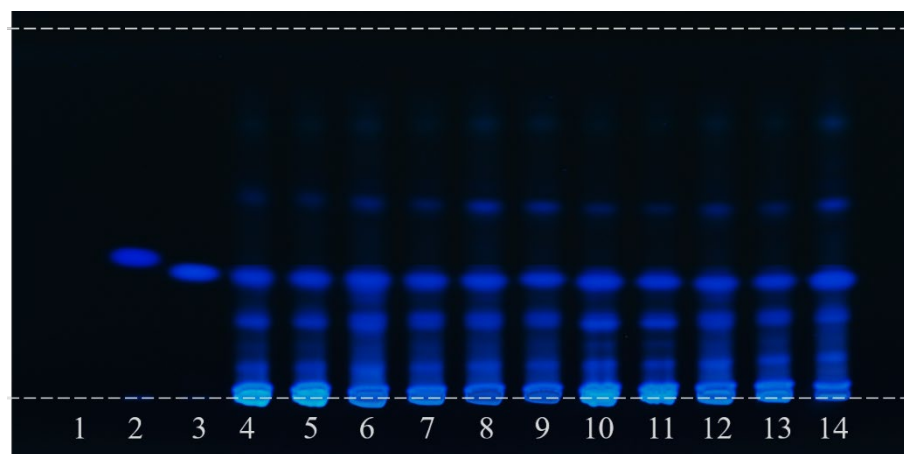
【萃取方法 2】《中華人民共和國藥典 2020》，《香港中藥材標準第二冊》

——HPTLC

(1) 紫外光(254 nm)檢出



(2) 紫外光(365 nm)檢出



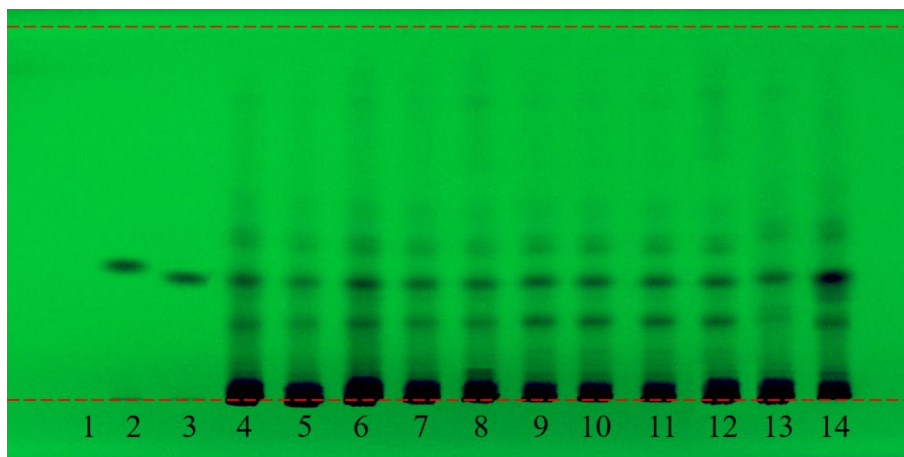
1	Blank	8, 9	檢品溶液 3 (NE)
2	阿魏酸(1.0 mg/mL)	10, 11	檢品溶液 4 (NF)
3	異阿魏酸(1.0 mg/mL)	12, 13	檢品溶液 5 (NH)
4, 5	檢品溶液 1 (NC)	14	Spike (檢品溶液 9)
6, 7	檢品溶液 2 (ND)		

【展開劑 3】(自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (12：6：1)

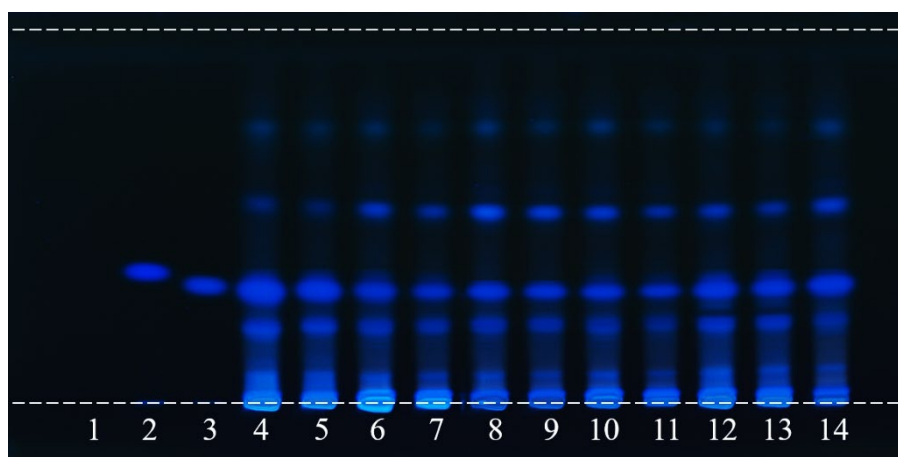
【萃取方法 2】《中華人民共和國藥典 2020》，《香港中藥材標準第二冊》

——HPTLC

(1) 紫外光(254 nm)檢出



(2) 紫外光(365 nm)檢出



1	Blank	8, 9	檢品溶液 8 (CF)
2	阿魏酸(1.0 mg/mL)	10, 11	檢品溶液 9 (SB)
3	異阿魏酸(1.0 mg/mL)	12, 13	檢品溶液 10 (SU1A)
4, 5	檢品溶液 6 (NK)	14	Spike (檢品溶液 9)
6, 7	檢品溶液 7 (CB)		

結論與建議：以中華人民共和國藥典，香港中藥材標準之【萃取方法 2】方式，及自行開發之【展開劑 3】分離與檢出異阿魏酸較佳，以紫外光(254 nm)及紫外光(365 nm)下檢視較佳。

升麻(飲片)

六、十批升麻飲片樣品檢測

實驗日期：110/09/01

相對溼度(RH)：68%

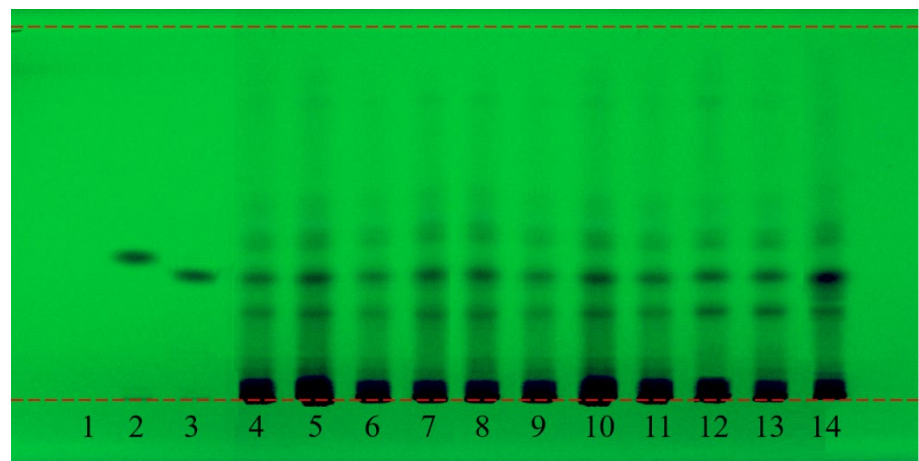
溫度(RT)：23.5 °C

【展開劑 3】(自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (12：6：1)

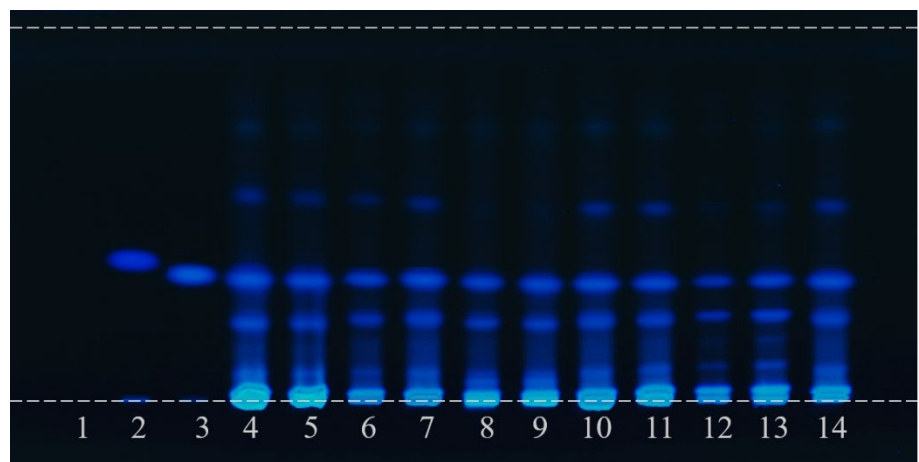
【萃取方法 2】《中華人民共和國藥典 2020》，《香港中藥材標準第二冊》

——HPTLC

(1) 紫外光(254 nm)檢出



(2) 紫外光(365 nm)檢出



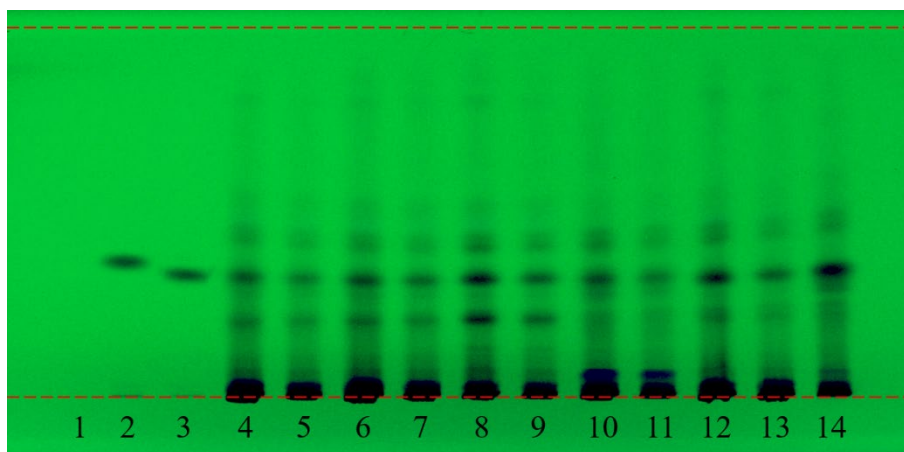
1	Blank	8，9	檢品溶液 3 (NJ)
2	阿魏酸(1.0 mg/mL)	10，11	檢品溶液 4 (CB1)
3	異阿魏酸(1.0 mg/mL)	12，13	檢品溶液 5 (CH)
4，5	檢品溶液 1 (NC)	14	Spike (檢品溶液 1)
6，7	檢品溶液 2 (NH)		

【展開劑 3】(自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (12：6：1)

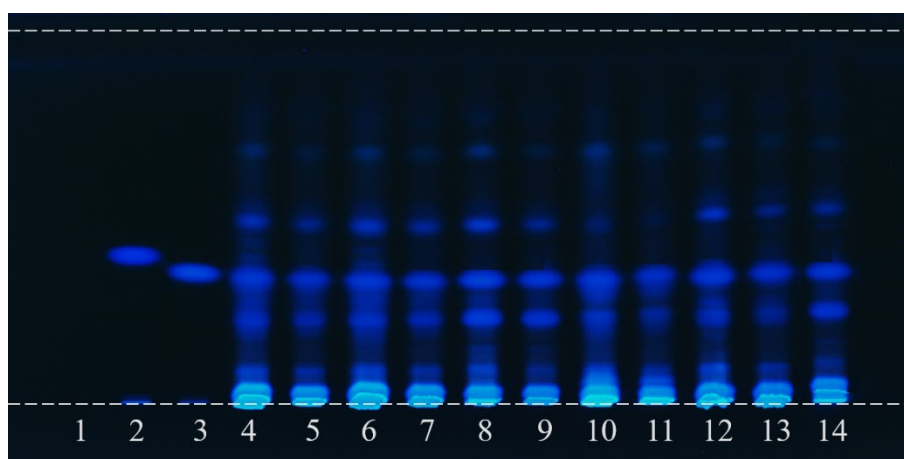
【萃取方法 2】《中華人民共和國藥典 2020》，《香港中藥材標準第二冊》

——HPTLC

(1) 紫外光(254 nm)檢出



(2) 紫外光(365 nm)檢出



1	Blank	8，9	檢品溶液 8 (SU1B)
2	阿魏酸(1.0 mg/mL)	10，11	檢品溶液 9 (SU1C)
3	異阿魏酸(1.0 mg/mL)	12，13	檢品溶液 10 (SU1D)
4，5	檢品溶液 6 (SGA)	14	Spike (檢品溶液 1)
6，7	檢品溶液 7 (SGB)		

結論與建議：飲片鑑別同藥材。